DIE BEDEUTUNG VON ENZYMEN FÜR DIE VERDAUUNG

Magdalena Helmig

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546015_0096

Aus der 2.Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

DIE BEDEUTUNG VON ENZYMEN FÜR DIE VERDAUUNG

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

M a g d a l e n a H e l m i g

aus Gersfeld

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. M. M. Forell
Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 12.12.1972

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 : Verdauung der Kohlenhydrate	2
11 : Vorkommen und Struktur der Kohlenhydrate	2
111 : Vorkommen der Kohlenhydrate in der Nahrung	2
112 : Struktur der wichtigsten Kohlenhydrate	5
12 : Abbau der Kohlenhydrate	8
121 : Amylasen	8
1211 : Vorkommen und Eigenschaften	9
1212 : Lokalisation des Polysaccharidabbaues beim Menschen durch die α-Amylase	11
1213 : Wirkungsmechanismus der α-Amylase	12
1214 : Nachweismethoden der α-Amylase	13
122 : Disaccharidasen	14
1221 : Definition und Einteilung der Disaccharidasen	14
1222 : α-Glycosidasen	15
1223 : β-Glycosidasen	15
2 : Verdauung der Fette	15
21 : Vorkommen und Struktur der Fette	15
211 : Vorkommen der Fette in der Nahrung	16
212 : Chemischer Aufbau der Fette	17
213 : Einteilung der Fettsäuren	19
22 : Abbau und Resorption der Fette	21
221 : Emulgierung der Fette	22
222 : Pankreaslipase	23

Seite

2221 : Eigenschaften der Pankreaslipase 23

2222 : Wirkungsmechanismus der Pankreaslipase 23

2223 : Nachweismethoden der Pankreaslipase 27

223 : Andere fett- und lipoidspaltende Enzyme 28

224 : Resorption der Fette. Bedeutung der Galle für die Verdauung 29

3 : Verdauung der Proteine 34

31 : Vorkommen und Struktur der Proteine 34

311 : Vorkommen der Proteine in der Nahrung 36

312 : Chemischer Aufbau der Proteine, Peptide und Aminosäuren 36

32 : Abbau und Resorption der Proteine 39

321 : Proteolytische Enzyme des Magens 40

3211 : Klassifizierung der proteolytischen Enzyme des Magens 42

3212 : Struktur des Pepsinogen- und Pepsinmoleküls 46

3213 : Wirkung von Pepsin bei der Eiweißverdauung 51

3214 : Nachweismethoden für Pepsin 52

322 : Proteolytische Enzyme des Pankreas 52

3221 : Trypsinogen und Trypsin 54

32211 : Aktivierung von Trypsinogen 54

32212 : Struktur und chemische Eigenschaften 55

32213 : Wirkungen des Trypsins 55

32214 : Trypsininhibitoren 57

32215 : Nachweismethoden für Trypsin 58

3222 : Chymotrypsinogen und Chymotrypsin 58

Seite

32221 : Struktur und chemische Eigenschaften 61

32222 : Aktivierung 61

32223 : Wirkungsweise der Chymotrypsine 62

32224 : Inhibitoren 63

3223 : Elastase 63

3224 : Carboxypeptidasen 64

32241 : Carboxypeptidase A 65

32242 : Carboxypeptidase B 66

323 : Proteolytische Enzyme des Dünndarms 67

3231 : Aminopeptidasen 68

3232 : Dipeptidasen 68

324 : Resorption der Spaltprodukte 69

Die Bedeutung von Enzymen für die Verdauung

Allgemeine Eigenschaften der Enzyme

Die bisher bekannten Enzyme gehören zur Gruppe der Proteine. Sie sind mit Katalysatoren vergleichbar, welche die Reaktionsgeschwindigkeit eines chemischen Vorgangs beschleunigen, dabei aber selbst nicht in die Reaktionsgleichung eingehen. Darüber hinaus können Enzyme aber auch - im Gegensatz zu Katalysatoren - nicht nur spontane Reaktionen beschleunigen, sondern auch Reaktionen hervorrufen (63).

Verantwortlich für diese katalytischen Fähigkeiten ist ein aktives Zentrum des Proteinmoleküls. Wird dieses zerstört, verliert das Enzym seine spezifische Aktivität.

Um eine maximale Aktivität der Enzyme zu erhalten, müssen bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein. Dazu gehören eine möglichst hohe Substratsättigung und ein optimales Ionenmilieu im Reaktionsmedium, eine bestimmte Temperatur und in manchen Fällen auch noch besondere Aktivatoren. Von Bedeutung ist außerdem die herrschende Wasserstoffionenkonzentration gemessen als pH-Wert, da fast alle Enzyme ihre volle katalytische Wirkung mur in einem begrenzten pH-Bereich - dem pH-Optimum - entfalten. Diese Abhängigkeit vom pH-Wert steht mit der Dissoziation von sauren und basischen Gruppen des Enzymproteins im Zusammenhang.

Die Enzymaktivität kann außerdem durch die Anwesenheit von bestimmten Ionen und organischen Stoffen gefördert oder auch gehemmt werden.

1 : Verdauung der Kohlenhydrate

Die Kohlenhydrate sind aus Kohlenstoff- und Wasseranteilen aufgebaut (63). Es sind Polyalkohole, bei denen eine alkoholische Gruppe dehydriert worden ist. Es gibt dabei die einfachen Kohlenhydrate, die der Bruttoformel $C_n(H_2O)_n$ entsprechen und zusammengesetzte Kohlenhydrate, welche durch Zusammenlagerung verschiedener Monosaccharidbausteine unter Wasseraustritt entstehen (Bruttoformel $C_x(H_2O)_y$).

111 : Vorkommen der Kohlenhydrate in der Nahrung

Kohlenhydrate sind wichtige Energiespender. Je nach Ernährung decken sie bis zu 70 % des täglichen Kalorienbedarfs. Sie kommen als Monosaccharide, Di- und Polysaccharide vor. Monosaccharide finden sich als selbständige Nahrungsbestandteile nur in kleinen Mengen als Glucose und Fructose z.B. im Obst. Disaccharide spielen eine größere Rolle, z.B. als Lactose in der Milch oder als Saccharose im Rohrzucker. Polysaccharide, die meistens aus Pflanzen gewonnen werden, dienen dort als Reservestoff (Stärke) oder Gerüststoffe (Cellulose).

Tab. 1 gibt den prozentualen Anteil der verschiedenen Mono-, Di- und Polysaccharide an der Nahrung

Abb. 1 zeigt Vorkommen und Gliederung der Kohlenhydrate, welche in der Nahrung vorkommen.

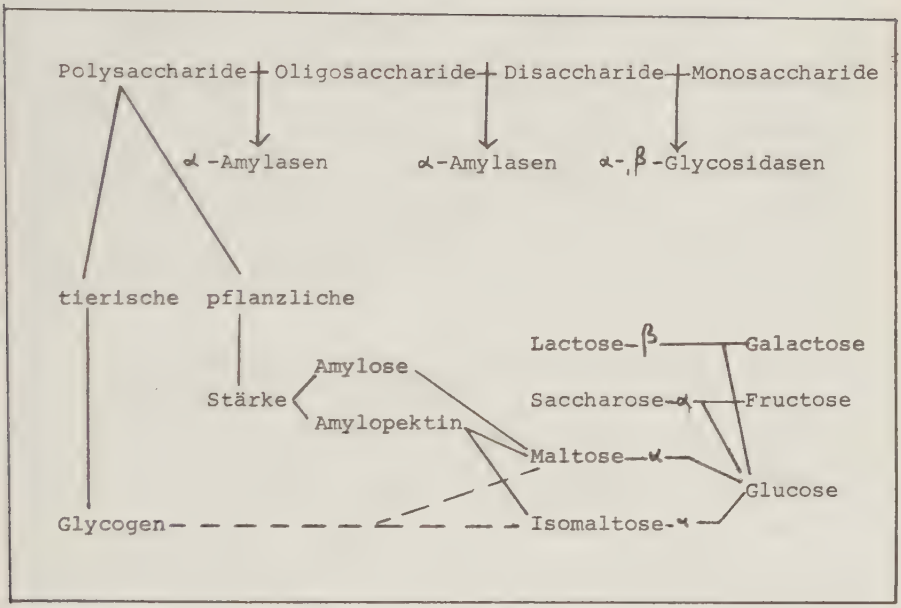


Abb. 1

Vorkommen und Gliederung der Kohlenhydrate

Polysaccharide	Stärke	Dextrine	Glycogen
Zwischenstufe	Maltose	Isomaltose	
Endprodukt	Glucose		
Vorkommen	Mehle und Gemüse		Fleisch, Fisch
Prozent	50%		gering

Disaccharide	Saccharose	Lactose	Maltose
Endprodukt	Glucose Fructose	Glucose Galactose	Glucose
Vorkommen	Rohr-Rüben-Zucker	Milch	Malz
Prozent	25%	10%	gering

Monosaccharide	Glucose	Fructose	Galactose
Vorkommen	Früchte und Honig		Lactose
Prozent	5%		-

Tab. 1

Prozentuale Verteilung der Poly-, Di- und Monosaccharide in den Kohlenhydraten der menschlichen Nahrung (Mod. nach Soskin et al. 100)

112 : Struktur der wichtigsten Kohlenhydrate

Wie schon erwähnt, können die Kohlenhydrate in einfache und zusammengesetzte Kohlenhydrate unterteilt werden.

Monosaccharide:

Die einfachen Kohlenhydrate sind Aldehyd- oder Ketoalkohole. Je nach der Zahl der Kohlenstoffatome werden Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen usw. unterschieden (63). Glucose, Fructose und Galactose sind Hexosen.

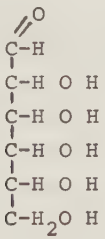
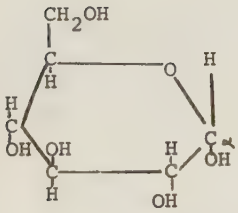


Abb. 2

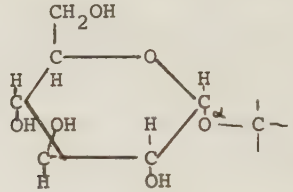
Beispiel für eine Hexose

Monosaccharide können verschiedene physikalische Eigenschaften aufweisen. Durch das asymmetrische C-Atom, das bei allen Zuckern mit mehr als 3 Kohlenstoffatomen vorkommt, entsteht eine optische Aktivität, die sich in einer Drehung des polarisierten Lichtes zeigt. Je nach Stellung der OH-Gruppe am C-Atom 1 der Strukturformel kann das Molekül in α- oder β-Form vorliegen. Wenn bei der Haworth-Schreibweise die Sauerstoffgruppe hinten steht und die OH-Gruppe nach unten weist, wird von der α-Form

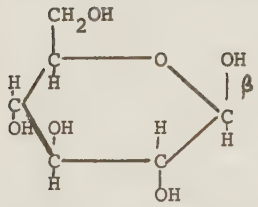
gesprochen. Bei gleicher Anordnung der Sauerstoffgruppe und nach oben weisender OH-Gruppe liegt die β-Form vor (Abb.3).



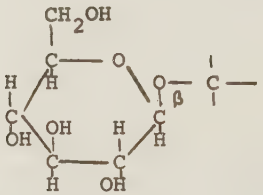
α-D-Glucose



α-glycosidische Bindung der Glucose



β-D-Glucose



β-glycosidische Bindung der Glucose

Abb. 3

Darstellung der α- und β-glycosidischen Bindung am Beispiel der α- bzw. β-D-Glucose

Disaccharide:

Die Disaccharide gehören zu den zusammengesetzten Kohlenhydraten und entstehen durch Vereinigung von zwei Monosaccharidresten unter Wasserabspaltung. So ist es verständlich, daß auch bei den Disacchariden α- und β-Formen vorliegen. Eine Möglichkeit der Umwandlung der α- in die β-Form wie bei den Monosacchariden besteht jedoch nicht. Dies ist beim Abbau durch die spezifischen α- bzw. β-Glycosidasen von Bedeutung.

Wichtig ist auch die Bindungsart der beiden Zuckerreste. An der Bindung ist wenigstens das glycosidische Kohlenstoffatom von einem der beiden Zucker beteiligt. Bleibt die reduzierende Gruppe des zweiten Zuckermoleküls frei, so wird die Reduktionsfähigkeit des Moleküls erhalten. Erfolgt die Bindung zwischen den beiden glycosidischen C-Atomen, d.h. zwischen beiden reduzierenden Gruppen, dann gehen die reduzierenden Eigenschaften verloren. Kohlenhydrate, die aus mehr als zwei Bausteinen zusammengesetzt sind, werden als Oligosaccharide bezeichnet; solche mit mehr als 8 Bausteinen zählen zu den Polysacchariden.

Polysaccharide:

Die Stärke besteht aus den beiden Komponenten Amylose und Amylopektin. Das Amylosemolekül setzt sich aus Glucoseeinheiten zusammen, die in 1 → 4-Stellung α-glycosidisch verknüpft sind. Es ist deshalb unverzweigt und schraubenförmig strukturiert. Amylopektin besteht aus α-glycosidisch verknüpften Glucosebausteinen in 1 → 4- und 1 → 6-Stellung. Das Amylopektinmolekül ist deshalb verzweigt. Die Hauptkette verzweigt sich ungefähr einmal je 25 Glucosereste. An die Seitenketten können sich

wiederum neue Ketten anlagern.
Glycogen zeigt in seinem Aufbau eine große Ähnlichkeit mit dem Amylopektinmolekül. Glycogen bildet das Reservekohlenhydrat des Tierreiches und kommt hauptsächlich in der Leber und im Muskel vor. Bei vollständiger Hydrolyse wird es zu Glucose abgebaut. Das Molekulargewicht beträgt etwa 1 Mio für Muskelglycogen, bis zu 16 Mio für Leberglycogen (52).
Die Cellulose ist der wichtigste Baustoff der Pflanzen. Die Glucoseeinheiten sind β-glycosidisch verknüpft und bilden ein langes Fadenmolekül. Cellulose kann im menschlichen Organismus nicht abgebaut werden.

12 : Abbau der Kohlenhydrate

Da langkettige Kohlenhydrate vom Körper nicht verwertet werden können, müssen sie vom Organismus in Monosaccharide zerlegt werden. Dieser Prozeß wird von hydrolisierenden Enzymen, die sich in den Verdauungssekreten und den Mucosazellen des Dünndarms befinden, den Amylasen und Disaccharidasen, besorgt.

121 : Amylasen

Amylasen katalysieren die hydrolytische Spaltung von Polysacchariden. Sie können biochemisch in zwei Gruppen, die Exoamylasen und die Endoamylasen, eingeteilt werden, die sich in ihrem Angriffspunkt unterscheiden.
Zu den Exoamylasen zählen die β-Amylasen (EC 3.2.1.2), die nur im Pflanzenreich vorkommen (25). Sie spalten von den Polysaccharidketten jeweils die beiden letzten Bruchstücke als β-Maltose

ab (52). Die β-Amylase wird als saccharogene Amylase bezeichnet, da durch die Spaltung vom Ende her rasch reduzierende Zucker im Reaktionsmedium auftreten. Amylopektin wird nur ungefähr zur Hälfte abgebaut, da das Enzym die 1 → 6-Bindungen an den Verzweigungsstellen nicht spalten kann. Amylose wird jedoch fast vollständig abgebaut.

Die α-Amylasen (EC 3.2.1.1) gehören zur Gruppe der Endoamylasen. Sie spalten Polysaccharide in der Mitte des Moleküls. Dabei treten zuerst Oligosaccharide von 6 bis 7 Glucoseeinheiten auf (52), die jedoch bei längerer Einwirkung bis zur Maltose abgebaut werden können. Diese Amylase wird als "dextrinogene Amylase" bezeichnet (2).

1211 : Vorkommen und Eigenschaften

Amylasen werden beim Menschen hauptsächlich in den Mundspeicheldrüsen und im Pankreas sowie in deren Sekreten angetroffen (52). Darüber hinaus finden sie sich in der Leber, im Darm,im Fettgewebe, im Muskelgewebe und im Urin (25,46). Elektrophoretisch können auch im Plasma Amylasen nachgewiesen werden. Diese setzen sich wahrscheinlich zu 75% aus Leber- und zu 25% aus Pankreasamylase zusammen (25). Die Speichel- und die Pankreasamylase sind in ihren chemischen Eigenschaften identisch. Beide Enzyme stimmen in ihrem Molekulargewicht, ihrer Wechselzahl, Stabilität, Löslichkeit und antigenen Spezifität überein.

Das Molekulargewicht der Pankreasamylase vom Schwein liegt nach Bestimmung durch Sedimentation (97) bei 53 000. Dieses Ergebnis stimmt gut mit dem aus der Aminosäurenzusammensetzung berechneten überein (102).

In der Elektrophorese wandert die α-Amylase mit den γ-Globulinen (25). Sie wird im Urin ausgeschieden.
Zur vollen Wirksamkeit des Enzyms sind Kalzium- und Chloridionen erforderlich. Amylase ist wesentlich stabiler gegen hohe Temperaturen, alkalische pH-Werte, organische Lösungen, Harnstoff und proteolytische Enzyme, wenn Kalziumionen dem Reaktionsmedium zugegeben werden (46). Man nimmt an, daß das Metallion das Protein in der katalytisch aktiven Form stabilisiert. Kalzium hat sicher keine direkte Funktion bei der Katalyse (97). Auch Chloridionen müssen in einer bestimmten Minimalkonzentration vorhanden sein, da sonst eine Hemmung der Aktivität eintritt. Brom- oder Jodionen können das Chlor bis zu einem gewissen Grad ersetzen (46).
Eine Hemmung der Amylase wird durch Zugabe von Schwermetallionen, z.B. von Kupfer-, Quecksilber-, Cyanid- oder Molybdationen bewirkt (46).
Der wirksame pH-Bereich liegt zwischen pH 5 und 11, das pH-Optimum bei 6.9. Das pH-Optimum kann allerdings durch die Anwesenheit verschiedener Ionen verändert werden. Bei Lorentz (65) findet sich eine Übersicht über die Abhängigkeit der Aktivität der Amylase vom pH und von verschiedenen Puffern.

Einige Eigenschaften der α-Amylase von Mensch und Schwein gibt Tab.2 (mod. nach Turvey in 46).

	Aktivität pro mg N in Bernfield Einheiten	% N	pH-Opt.	IEP	Aktiv. durch Ca^{++}	Aktiv. durch Cl^{-}
Parotis und Pankreas Mensch	6200	15,8	6,9	5,3	---	+
Pankreas Schwein	4000	15,8	6,9	5,3	---	+

Tab. 2

Einige Eigenschaften der α-Amylase von Mensch und Schwein (mod. nach Turvey in 46)

Die Amylase wird wie die übrigen Pankreasenzyme in den Zymogengranula der Acinuszellen des Pankreas gespeichert. Die Synthese findet an den Ribosomen statt; von dort gelangt das Enzym über die Schläuche des endoplasmatischen Retikulums in die Zymogengranula. Durch nervale und hormonale Stimuli können die Enzyme freigesetzt und in das Pankreassekret abgegeben werden.

1212 : Lokalisation des Polysaccharidabbaues beim Menschen

Bereits mit der Sekretion von α-Amylase durch die Mundspeicheldrüsen beginnt die Verdauung der mit der Nahrung aufgenommenen Stärke. Die hydrolytische Spaltung geht im Magen noch weiter, bis die Amylase des Mundspeichels durch den sauren Magensaft inaktiviert worden ist. Der Magen selbst sezerniert keine kohlenhydratabbauenden Enzyme. So wird weitaus der größte Teil

durch die Pankreasamylase im Duodenum und Jejunum gespalten (63). In neuerem Schrifttum wird nur noch die Bezeichnung α-Amylase verwendet. Früher waren daneben noch die Bezeichnungen "Diastase" und "Ptyalin" gebräuchlich. Der ursprüngliche Name Ptyalin wurde von Leuchs geprägt, der die Wirksamkeit dieses Enzyms schon 1831 entdeckte.

1213 : Wirkungsmechanismus der α-Amylase

Die α-Amylase spaltet 1,4-α-glycosidische Bindungen von Polysacchariden. Das Enzym greift vermutlich an der Spiralstruktur des Moleküls an und spaltet benachbarte, d.h. um eine Windung voneinander entfernte 1 → 4-Glycosidbindungen (52).
Deshalb können 1 → 6-Bindungen, die nicht von der α-Amylase gespalten werden, übersprungen werden. Bei längerer Einwirkung des Enzyms werden die Bruchstücke weitgehend zu Maltose abgebaut.
Die Disaccharide werden von der α-Amylase nicht weiter zu Glucose abgebaut, da die α-Amylase als Substrat eine Kette von mindestens drei in 1 → 4 verknüpften Glucoseeinheiten benötigt. Bei dem Disaccharid hört die Hydrolyse auf. Da Maltose in der α-Form freigesetzt wird, erhielt das Enzym die Bezeichnung α-Amylase.

Für die Entstehung der α-Konfiguration werden zwei Mechanismen diskutiert (97):

1) Die α-Konfiguration wird durch die sterische Beschränkung, die durch die Oberfläche des Enzyms hervorgerufen wird, zurückerhalten.

2) Es findet eine doppelte Umlagerung statt, durch die wieder die α-Konfiguration erhalten wird.

1214 : Nachweismethoden der α-Amylase

Man benützt hauptsächlich drei Methoden zur Bestimmung der α-Amylaseaktivität:

1 : Messung des Viskositätsabfalls (48)

2 : Bestimmung der reduzierenden Wirkung der Maltose (saccharogene Methode, 103)

3 : Messung des Farbumschlages des Jod-Stärkekomplexes (amyloklastische Methode, 98)

Es soll hier nur auf die dritte Methode weiter eingegangen werden.
Wird Jod zu einer Amyloselösung gegeben, so wird es teilweise durch das Polysaccharid gebunden. Dies zeigt sich durch einen blauen Farbumschlag. Ein kleiner Teil bleibt ungebunden. Dieses Gleichgewicht, die Bindungskapazität des Amylosemoleküls und die Stabilität der in ihren Windungen angeordneten Polyjodkette sind an die durchschnittliche Länge der helicalen Amylosesegmente gebunden. Somit besteht eine Abhängigkeit von pH-Wert, Temperatur, Jodidkonzentration, anderen Komplexbildnern und dem mittleren Polymerisationsgrad der verwendeten Stärke (65). Als Substrat dient Amylum solubile, das wegen seiner guten Löslichkeit eine Substratsättigung des Enzyms gewährleistet.

122 : Disaccharidasen

Da die Amylasen die Polysaccharide nur bis zu den Disacchariden abbauen, muß eine weitere Spaltung stattfinden, da die Kohlenhydrate dem Intermediärstoffwechsel nur als Monosaccharide zugeführt werden können. Die dazu notwendigen Disaccharidasen befinden sich im Bürstensaum der Mucosazellen (69). Da der Nachweis von Disacchariden in den Mucosazellen bis jetzt nicht erbracht werden konnte, wird vermutet, daß die Spaltung der Disaccharide an der Zellgrenze erfolgt (65,51).
Andere Autoren vertreten die Ansicht, daß die Disaccharide ungespalten in die Mucosazellen des Dünndarms aufgenommen und nach ihrer Resorption intrazellulär hydrolisiert werden (69,51). Die Monosaccharide gelangen dann über die Mucosazellen auf dem Blut- und Lymphweg in den Intermediärstoffwechsel.

1221: Definition und Einteilung der Disaccharidasen

Disaccharidasen gehören ebenfalls zur Gruppe der Hydrolasen. Ihre Spezifität wird durch die Art der glycosidischen Bindung des Substrates bestimmt. Es werden α- und β-Glycosidasen unterschieden. Bisher wurden in der Dünndarmschleimhaut des Menschen 6 α- und 2 β-Glykosidasen gefunden. Die Trennung gelang durch progressive Hitzeeinwirkung (23), bzw. durch Sephadex-Chromatographie (96).
Bestimmung der Disaccharidaseaktivität:
Homogenate aus Jejunummucosa werden mit entsprechenden Substraten inkubiert und die entstehenden Monosaccharide gemessen (5).

1222 : α-Glycosidasen

Die 6 α-Glycosidasen der Dünndarmmucosa gliedern sich in 1 Trehalase (EC 3.2.1.28) und 5 Maltasen (EC 3.2.1.20). Neben ihrer Maltaseaktivität haben Maltase 3 und 4 zusätzlich eine Saccharidasaktivität und die Maltase 5 eine Isomaltaseaktivität (5).

1223 : β-Glycosidasen

Die beiden β-Glycosidasen sind Lactasen (EC 3.2.1.23). Sie bewirken die Spaltung des Milchzuckers.

2 : Verdauung der Fette

Stoffe, die sich durch organische Lösungsmittel aus Geweben extrahieren lassen, in Wasser jedoch nahezu unlöslich sind, nennt man Lipide. Organische Lösungsmittel sind z.B. Chloroform oder Äther. (Diese Einteilung ist allerdings nicht absolut gültig, z.B. Ganglioside). Die Mehrzahl dieser sehr heterogenen Gruppen enthalten Fettsäuren in ester- oder säureamidartiger Bindung, wie z.B. die Neutralfette (die eigentlichen Fette), die Phosphatide und die Cerebroside. Die Gruppe der Lipide kann in zwei Untergruppen, die Neutralfette und die Lipoide eingeteilt werden.
An der täglich zugeführten Nahrung haben die Fette einen Anteil von ungefähr 40%. Die Kalorienzahl, die bei ihrer Verbrennung frei wird, ist außerordentlich hoch, nämlich 9,3 kcal/g Fett (8).

211 : Vorkommen der Fette in der Nahrung

Fette dienen den Lebewesen als Energiereserven, da der Organismus bei einem Nahrungsüberangebot einen Teil der Nährstoffe in Fette umwandeln kann. Dieses Fett wird in geeigneten Geweben gespeichert.

Fett kann dem Organismus in reiner Form, beispielsweise durch Butter oder Pflanzenöl, zugeführt werden. Außerdem finden sich Fettstoffe auch als Bestandteile der meisten übrigen Nahrungsmittel. Der Fettgehalt einiger Nahrungsmittel ist in Tab. 3 aufgeführt.

Nahrungsmittel	Fettanteil (%)	Kaloriengehalt (kcal pro 100 g Nahrungsmittel)	Durchschnittlich verzehrte Portion (g)
Roggenbrot	1,2	244	50
Vollmilch	3,9	68	250
Butter	81,0	716	14
Frischei	11,5	162	50
Heilbutt (gebraten)	7,8	182	120
Huhn	12,6	200	150
Rindfleisch (gebraten)	7,7	208	90
Erdnüsse (geröstet)	44,2	560	30
Walnüsse	64,4	650	30
Pellkartoffeln	0,1	83	140
Pommes frites	19,1	393	80

Tab. 3
Fettgehalt verschiedener Nahrungsmittel (8)

Außer ihrer Bedeutung als Reservestoffe und Kalorienspender sind die Fette Träger der essentiellen Fettsäuren, die im menschlichen Organismus nicht synthetisiert werden können. Außerdem sind in den Fetten die fettlöslichen Vitamine enthalten.

Von den Lipoiden ist das Cholesterin am bedeutendsten. Es ist Ausgangsmaterial z.B. für Gallensalze und die Steroidhormone, außerdem ein wichtiger Baustein für die Zelle.
Cholesterin ist ein einwertiger, ungesättigter, sekundärer Alkohol.

212 : Chemischer Aufbau der Fette

Die eigentlichen Fette, auch Neutralfette genannt, gehören ihrer chemischen Natur nach zu den Estern. Sie sind Ester des Alkohols Glycerin mit unverzweigten Monocarbonsäuren, den Fettsäuren. Als dreiwertiger Alkohol kann das Glycerin Mono-, Di- und Triester bilden, die dann auch Mono-, Di- und Triglyceride genannt werden.

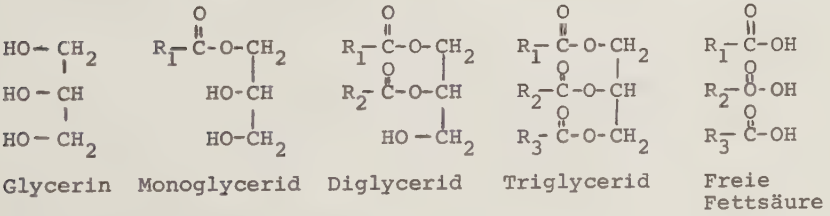
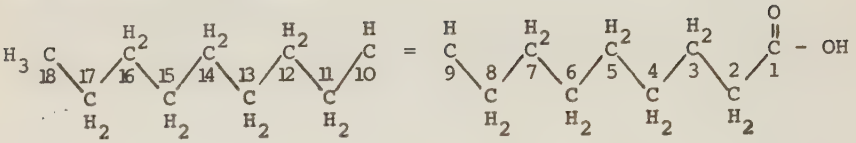


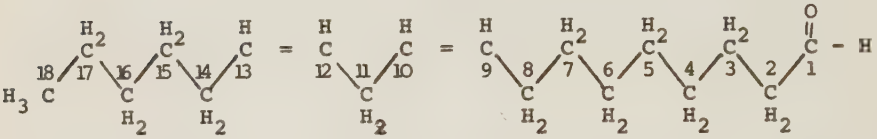
Abb. 4

Glycerin und Glyceride

UNGESÄTTIGTE FETTSÄUREN

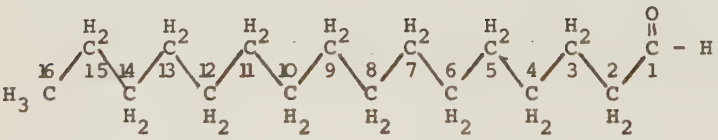


ÖLSÄURE $C_{15}H_{34}O_2$

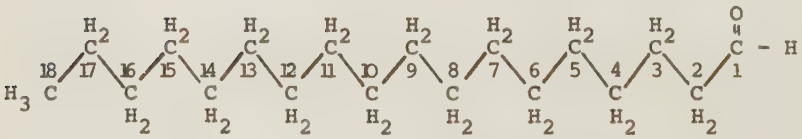


LIONOLSÄURE $C_{18}H_{32}O_2$

GESÄTTIGTE FETTSÄUREN



PALMITINSÄURE $C_{16}H_{32}O_2$



STEARINSÄURE $C_{18}H_{36}O_2$

Abb. 5 Chemischer Aufbau der häufigsten gesättigten und ungesättigten Fettsäuren

213 : Einteilung der Fettsäuren

Man unterteilt die Fettsäuren in ungesättigte und gesättigte Fettsäuren. Die Fettsäuren der natürlich vorkommenden Fette haben fast alle eine gerade Zahl von C-Atomen und eine unverzweigte Kohlenstoffkette. Enthalten die Fettsäuren Doppelbindungen, sind sie ungesättigt. Fettsäuren ohne Doppelbindungen werden als gesättigt bezeichnet. Bevorzugt sind Fettsäuren mit 16 und 18 Kohlenstoffatomen, z.B. Palmitin- und Stearinsäure. Bei den ungesättigten Fettsäuren kommt es durch die Doppelbindung zur räumlichen Isomerie, d.h. sie können in cis- oder trans-Form vorliegen. Die Ölsäure ist z.B. die cis-Form, die Elaidinsäure die trans-Form der Δ9-Octadecensäure. Die Fettsäuren werden in Zick-zacklinien dargestellt, da diese die stabilste Anordnung der langen Kette ist.

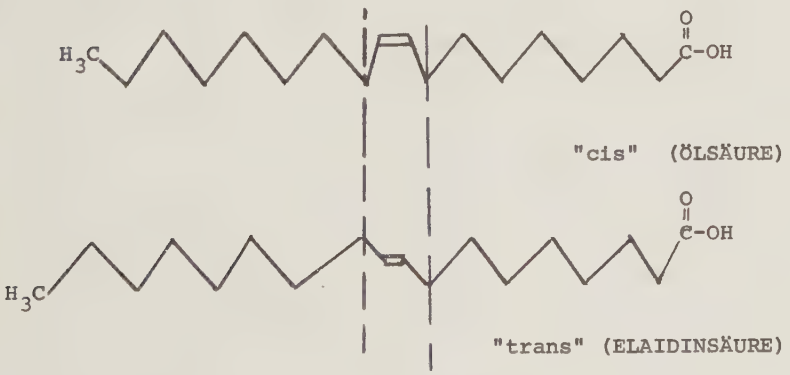


Abb. 6

cis- und trans-Form ungesättigter Fettsäuren am Beispiel der Δ^9-Octadecensäure.

Bei den höher ungesättigten Fettsäuren, wie der Linolsäure, der Linolen- und Arachidonsäure, sind die Doppelbindungen durch 2 Einfachbindungen getrennt, so daß sie deshalb nicht miteinander in Wechselwirkung treten können. Linol- und Linolensäuren finden sich in größeren Mengen im Leinöl. Der Säugetierorganismus kann diese Säuren nicht synthetisieren. Sie können jedoch dort in höher ungesättigte Fettsäuren umgewandelt werden.

Tab. 4 gibt den chemischen Aufbau einiger Fettsäuren und deren prozentualen Anteil an den Gesamtfettsäuren verschiedener Fette und Öle.

	Chem. Aufbau		Prozentualer Anteil in Fetten und Ölen			
	Brutto-formel	Schmelz-punkt	Lein-öl	Oliven-öl	Butter	Schweine-fett
Linolensäure	$C_{18}H_{30}O_2$	-11,2 bis -11°C	ca.46	-	-	-
Linolsäure	$C_{18}H_{32}O_2$	-11 bis - 5°C	ca.18	8,5	3,6	13,8
Ölsäure	$C_{18}H_{34}O_2$	+ 13°C	ca.25	7,7	29,6	42,2
Stearinsäure	$C_{18}H_{32}O_2$	+ 69,6°C	ca. 5	3,0	9,2	14,9
Palmitinsäure	$C_{16}H_{32}O_2$	+ 62,85°C	ca. 5	10,0	25,3	25,6
Myristinsäure	$C_{14}H_{28}O_2$	+ 54,4°C	-	0,5	12,1	2,3
Buttersäure	$C_4H_8O_2$	- 7,9°C	-	-	3,0	-

Tab. 4

Chemischer Aufbau einiger Fettsäuren und deren prozentualer Anteil an den Gesamtfettsäuren verschiedener Fette und Öle (45)

Der Schmelzpunkt der Fette ist abhängig von dem Anteil der gesättigten und der ungesättigten Fettsäuren und der Länge der Fettsäuren. Enthält ein Fett viele gesättigte Fettsäuren, ist der Schmelzpunkt höher; sind viele ungesättigte Fettsäuren oder viele niedermolekulare Fettsäuren vorhanden, liegt der Schmelzpunkt niedriger. Fette, die bei Raumtemperatur in flüssiger Form vorliegen, werden als Öle bezeichnet. Wenn die Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren hydriert werden, können Öle in feste Fette überführt werden.
Fette, die einen großen Gehalt an ungesättigten Fettsäuren haben, sind im allgemeinen besser verdaulich als die Fette mit vielen gesättigten Fettsäuren (63).

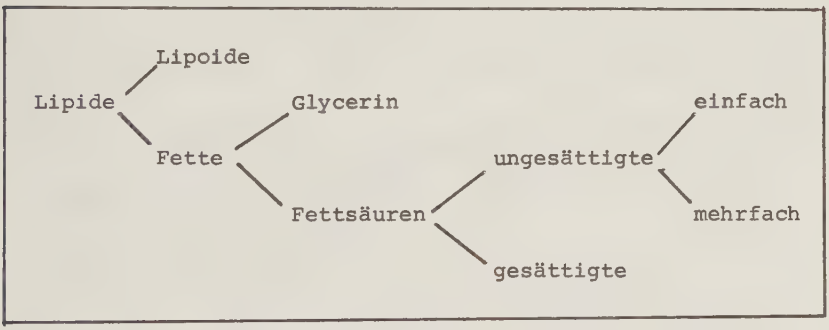


Abb. 7

Chemische Bauelemente der Fette

22 : Abbau und Resorption der Fette

Nach Hübscher (47) kann man bei der Fettverdauung, die gewöhnlich 4 bis 5 Stunden dauert, 4 Phasen unterscheiden:

1. Emulgierung und partielle Hydrolyse der mit der Nahrung aufgenommenen Triglyceride
2. Eintritt der partiell hydrolisierten Glyceride und freien Fettsäuren in die Epithelzellen der Dünndarmschleimhaut
3. Biosynthese von Triglyceriden in der Dünndarmschleimhaut
4. Bildung von Chylomikronen und ihr Transport durch die Lymphe

Hier sollen die beiden ersten Phasen genauer erläutert werden.

221 : Emulgierung der Fette

Lipase wirkt ausschließlich auf emulgierte, wasserunlösliche Substrate ein, wasserlösliche Substrate werden nicht angegriffen. Lipide sind, wie oben erwähnt, in Wasser nahezu unlöslich. Die Lipase ist als Protein im wässrigen Verdauungssekret gelöst. Aus diesem Grund kann das Enzym nur an der Grenzfläche der Öl/Wasser-Emulsion wirksam sein. Durch eine möglichst feine Emulgierung der Fette kann eine Vergrößerung der Oberfläche erreicht werden, so daß die Pankreaslipase, welche die Spaltung der Triglyceride bewirkt, eine große Angriffsfläche vorfindet (85).

Die Emulgierung der Fettröpfchen im wässrigen Verdauungssekret wird durch "oberflächenaktive Substanzen" bewirkt. Durch sie kommt es zu einer Verminderung der Grenzflächenspannung zwischen Öl und Wasser. Im Körper wird normalerweise durch Galle, insbesondere durch Gallensalze, eine ausreichende Emulgierung erreicht. Dieser Prozeß wird durch die Darmbewegungen und die Körpertemperatur unterstützt (108).

222 : Pankreaslipase

Die Pankreaslipase gehört zur Klasse der Carbonsäure-Esterasen (EC 3.1.1). Sie wird, wie die anderen Enzyme des Pankreas, in den Acinuszellen der Drüse gebildet und in den Zymogengranula gespeichert. Lipase wird - wie die Amylase - bereits in aktiver Form vom Pankreas sezerniert (27).

2221 : Eigenschaften der Pankreaslipase

Die Substrate für die Pankreaslipase müssen in emulgierter, wasserunlöslicher Form vorliegen, in Wasser gelöste Substrate werden praktisch nicht angegriffen. Die Substratspezifität der Lipase ist nicht stark ausgeprägt; sie spaltet auch Ester der einfachen Alkohole, wenn sie in emulgierter Form vorliegen (67).

Die Pankreaslipase scheint Esterbindungen des Glycerins mit langkettigen Fettsäuren wesentlich schneller abzubauen als solche mit kurzkettigen Fettsäuren.

Werden Ca^{++} oder Mg^{++} Ionen der Inkubationslösung zugesetzt, so erhöht sich die Aktivität des Enzyms. Diese Funktionen üben auch Gallensalze, oder andere oberflächenaktive Substanzen und Albumin aus (46). Ca^{++} vermehrt auch die Thermostabilität der Lipase (113).

Als weitere Faktoren, die die Aktivität der Lipase beeinflussen, sind a) das Substratangebot und b) die Lipasekonzentration aufzuführen. Diese beiden Parameter sind im Hinblick auf die vollständige Hydrolyse besonders wichtig.

a) Versuchsergebnisse von Borgström (15) zeigen, daß das Ausmaß der Hydrolyse zu freiem Glycerin abhängig ist von der Höhe des Substratangebotes und von der Einwirkungszeit. Die Menge des freien Glycerins steigt beinahe linear mit der Zeit an (siehe Tab. 5).

Inkubationszeit Min.	Freies Glycerin %
15	4.7
30	9.8
45	14.1
60	16.7
120	31.7

Tab. 5

Zeitlicher Verlauf der freien Glycerinbildung mit Glycerin-markiertem Triolein inkubiert mit menschl. Darminhalt (15)

b) Die vorliegende Lipasekonzentration im Dünndarm des Menschen gestattet bei verzögerter Resorption eine beachtenswerte Hydrolyse der Monoglyceride. Das ist wichtig, da die Monoglyceride zur Verhinderung eines Calzium-Seifen-Komplexes notwendig sind. Aus in vitro-Ergebnissen geht jedoch andererseits hervor, daß die Lipasemenge des Darmsaftes noch genug hoch/ ist, um in relativ kurzer Zeit eine Gleichgewichtseinstellung

zwischen der Synthese und der Hydrolyse der primären Esterbindung herbeizuführen. Die physiologische Bedeutung dieses von der Lipase katalysierten Gleichgewichts ist die kontinuierliche Erzeugung von Monoglyceriden und Fettsäuren für den Bürstensaum der Mucosa (15).

Durch die freien Fettsäuren, die bei der Lipolyse entstehen, und sich an Grenzflächen ansammeln, wird die Lipase gehemmt. Diese Hemmung kann durch Gallensalze und Kalziumionen verhindert werden, da sie die freien Fettsäuren in die wässrige Phase überführen (27). Diese sind dann kein geeignetes Substrat mehr, da die Pankreaslipase nur an den Phasengrenzflächen der Öl- in Wasseremulsion wirksam ist. Ebenso wird die Pankreaslipase durch Chinin und Diäthyl-p-nitrophenylphosphat gehemmt (91), wenn diese Substanzen in emulgierter (nicht aber in Wasser gelöster) Form vorliegen. Eine zu hohe Konzentration an Schwermetallsalzen, Gallensalzen oder Halogenen kann ebenso hemmend wirken (52). Die Frage nach einer Hemmung der Lipase durch Antibiotika ist bis heute nicht letztlich geklärt. Es ist vor allem ungewiss, ob diese direkt auf das Enzym oder den Enzym-Substrat-Komplex einwirken.
Das Molekulargewicht des Enzyms liegt zwischen 35000 bis 42000. Der isoelektrische Punkt wird (Elektrophorese auf Stärke) bei 5.2 angegeben (27).
Nach Borgström (13) liegt das pH-Optimum der Lipase bei pH 8 bis 9. In Gegenwart von Gallensalzen wird das pH-Optimum in neutrale bzw. schwach saure Bereiche verschoben.
Dies ist von physiologischer Bedeutung, da während der Ver-

dauung im Duodenum und oberen Jejunum ein pH von 6.0 herrscht (24). Die optimale Gallensalzkonzentration beträgt dabei 5 - 10 mval/L.

2222 : Wirkungsmechanismus der Pankreaslipase

Die Pankreaslipase katalysiert bevorzugt die hydrolytische Spaltung der Esterbindung in 1- und 3-Stellung der Triglyceride, so daß bei der Spaltung hauptsächlich 1,2- oder 2,3-Diglyceride und 2-Monoglyceride auftreten.

Die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt von den Triglyceriden zu den Monoglyceriden hin ab, so daß normalerweise 80 - 90% der Nahrungsglyceride als 2-Monoglyceride resorbiert werden (15).

Die Spaltung der Monoglyceride erfolgt nach Borgström (15) in der Hauptsache direkt in der 2-Form. Desnuelle (27) nimmt dagegen an, daß zunächst eine Isomerisierung in die 1-Form stattfinden müsse, da die Pankreaslipase die Esterbindungen in Position 2 nicht spalten könne.

Im Gleichgewicht ist das Verhältnis von 1- und 2-Monoglyceriden 88 : 12 (15). Die Isomerisationsrate ist dabei vom pH abhängig. Darüber hinaus dürfte sie sonst nur noch zeitabhängig sein,da diese Reaktion nicht durch ein Enzym katalysiert wird. Bisher konnte jedenfalls eine Monoglycerid-Isomerase im Pankreassaft nicht nachgewiesen werden (27). Da aber die Gleichgewichtseinstellung sehr langsam verläuft, ist der Anteil der gespaltenen 1-Monoglyceride nach Borgström (15) gegenüber dem der 2-Formen jedoch gering.

Die Reaktionen der Pankreaslipase sind reversibel (66), d.h. bei genügend hoher Glycerinkonzentration kann die Reaktion auch in umgekehrter Richtung ablaufen (15). Unter physiologischen Bedingungen liegt das Gleichgewicht jedoch ganz auf der Seite des Spaltproduktes (vgl. S.24).

Abb. 6 gibt eine schmatische Übersicht über den Abbau der Triglyceride durch die Lipase des Pankreas.

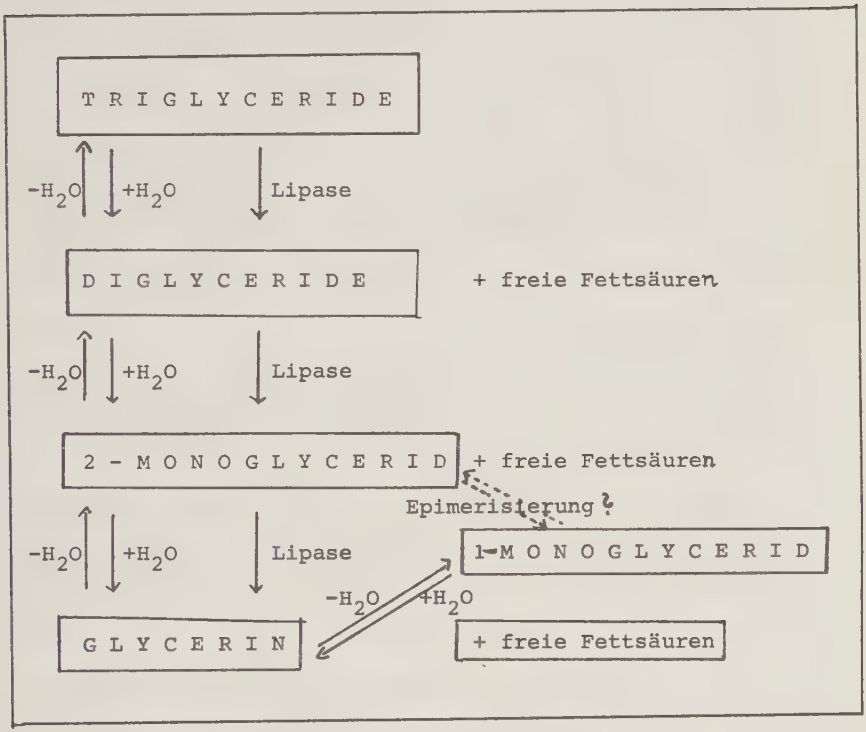


Abb. 8

Einfache schematische Übersicht über den Abbau der Triglyceride durch die Lipase des Pankreas

2223 : Nachweismethoden der Lipasen

Zur Messung der Aktivität der Lipasen können die durch sie hervorgerufenen Spaltprodukte und Reaktionen ben-utzt werden. So kann z.B. die Veränderung der Oberflächenspannung des Substrates nach der stalagmometrischen Methode gemessen werden; diese

Methode ergibt jedoch nicht immer exakte Ergebnisse. Sie wird noch zum qualitativen oder semiquantitativen Nachweis herangezogen (46). Die Messung der bei der Spaltung freigesetzten Säuren kann tirimetrisch, manometrisch und potentiometrisch erfolgen.

Sehr zuverlässig ist die titrimetrische Methode nach Weber (112) für die Pankreaslipase im Serum. Dabei wird ein Gemisch aus Trispuffer (pH 8) und Olivenölemulsion inkubiert. Die freigesetzten Fettsäuren werden dann mit 0,05n Natronlauge titrimetrisch bestimmt.

Bei der potentiometrischen Methode wird der pH unter Kontrolle eines pH-Meters durch stete Zugabe von 0,1n Natronlauge bei pH 9,0 konstant gehalten (67).

Die manometrische Methode beruht auf der Tatsache, daß die bei der Hydrolyse auftretende Säure Kohlendioxyd aus einem Bicarbonatpuffer freisetzt. Die erhaltene Kohlendioxydmenge wird dann manometrisch bestimmt (20).

Es kann auch das zweite Spaltprodukt der Esterbindung, der Alkohol, zur Bestimmung der Lipasen herangezogen werden (95).

223 : Andere fett- und lipoidspaltende Enzyme

Lipasen kommen nicht nur im Pankreassekret vor. Aus der Darmschleimhaut konnte beispielsweise eine Lipase extrahiert werden, die β-ständige Fettsäuren angreifen soll (52).

Lipasen wurden außerdem im Harn, Serum, Gehirn und Leber nachgewiesen (46). Die Pankreaslipase kann durch sie jedoch nicht

ersetzt werden. Ein Fehlen der Pankreaslipase führt immer zur Steatorrhoe.

Im Pankreassekret werden neben der Lipase zwei Phospholipasen gefunden. Phospholipase A (EC 3.1.1.4) spaltet die Esterbindung am C-Atom 2 des Glycerin von 3-sn-Phosphoglyceriden, beispielsweise von Lecithin und Kephalin. Die verbleibende Fettsäure-Esterbindung der so entstandenen Lysophosphatide am C-Atom 1 kann von Phospholipase B ("Lysophospholipase" EC 3.1.1.5) angegriffen werden.

224 : Resorption der Fette; Bedeutung der Galle für die Verdauung

Die Resorption und Spaltung des Fettes findet vor allem im unteren Duodenum und oberen Jejunum statt (14). Die Vielzahl der Theorien über den Resorptionsmechanismus läßt erkennen, wie uneinheitlich noch die Vorstellungen sind.

Nach Borgström (16) ist der Transport der Fette zu der Zellmembran in der emulgierten Phase nicht möglich; die Fette müssen vorher in die "mizellare Phase" überführt werden. Auch die Pinozytose feiner Fettröpfchen kommt als Resorptionsmechanismus nicht in Frage. Borgström und Hofmann konnten nachweisen, daß durch Zugabe von Pankreaslipase zu einer Emulsion von Triglyceriden Zeichen einer deutlichen Verminderung der Teilchengröße auftraten (43). Darüber hinaus wurde von der Arbeitsgruppe das Vorhandensein einer fetthaltigen mizellaren Phase nachgewiesen (44). Mizellen sind Molekülaggregate mit einem Durchmesser von ungefähr 40 Å bis 80 Å (16).

Zur Entstehung der mizellaren Phase:
Es können polare und nichtpolare Substanzen unterschieden werden. Die nichtpolaren Substanzen sind so gut wie wasserunlöslich. Nichtpolare Lipide sind z.B. Triglyceride.
Die Wasserlöslichkeit der polaren Substanzen ist unterschiedlich, je nach Überwiegen der hydrophilen oder hydrophoben Pole. Polare Lipide sind z.B. die freien Fettsäuren, wovon kurzkettige besser wasserlöslich sind als langkettige. Langkettige Fettsäuren sind bei Körpertemperatur nur wenig wasserlöslich. Sie erreichen erst oberhalb einer kritischen Temperatur eine gute Wasserlöslichkeit. Fettsäuren sind in wasserlöslichem Zustand amphiphatisch wirksam, wenn sie mindestens aus 6 C-Atomen aufgebaut sind. Amphiphatische Verbindungen haben die Eigenschaft, sich an Phasengrenzflächen (z.B. Öl-Wasser) anzulagern. Wenn sie in wässriger Lösung die sogenannte kritische mizellare Konzentration überschreiten (24), schließen sie sich zu Aggregaten, den Mizellen zusammen. Der hydrophobe Teil zeigt dabei in das Innere des Aggregates, der hydrophile nach außen gegen das Wasser.

Mizellen können nichtpolare Substanzen lösen, indem sie diese in ihrem Inneren einlagern. Amphiphatisch wirksame Substanzen, die bei Körpertemperatur wasserunlöslich sind, werden als amphiphile Verbindungen bezeichnet. Durch Lösung solcher amphiphiler Substanzen durch andere (bereits bei Körpertemperatur) mizellenbildende amphiphatische Verbindungen entstehen gemischte Mizellen. Dadurch werden die Mizellen vergrößert, so daß eine größere Menge nichtpolarer Substanzen (Neutralfette) eingelagert werden kann (Abb. 9).

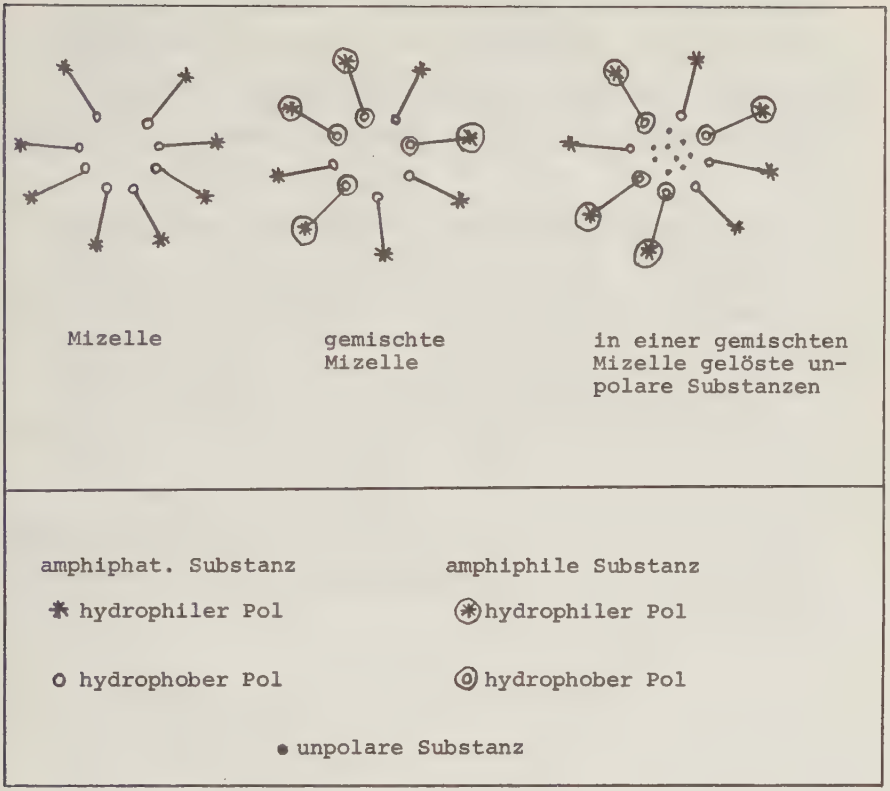


Abb. 9

Mizellen

Bei der Verdauung der Fette stellen die entstehenden freien Fettsäuren und Monoglyceride die amphiphilen Substanzen, die Gallensäuren die amphiphatischen dar. Diese bilden zusammen gemischte Mizellen. Bei der Verdauung stellt sich ein Gleichgewicht zwischen der Emulsionsphase und der Mizellarphase und zwischen der Mizellarphase und der Zellmembran ein.

Die Mizellen werden nicht als Ganzes resorbiert. Die Gallensalze bleiben im Darmlumen zurück und werden erst im unteren Ileum aktiv resorbiert. Zusammenfassend wird noch einmal auf die einzelnen Phasen der Fettverdauung hingewiesen (vgl. Abb.10):

1. Emulgierung und partielle Hydrolyse der Triglyceride im Darmlumen.
2. Übertritt der partiell hydrolisierten Glyceride und freien Fettsäuren in die Epithelzellen der Dünndarmschleimhaut
3. Resynthese der Triglyceride in der Dünndarmschleimhaut
4. Ausbildung von Chylomikronen und Abtransport der Triglyceride im Chylus

Dementsprechend wurden in der Dünndarmmucosa Enzyme wie Acetyl-CoA-Synthetase, Monoglycerid-Transacylase, Diglycerid-Transacylase nachgewiesen (27).

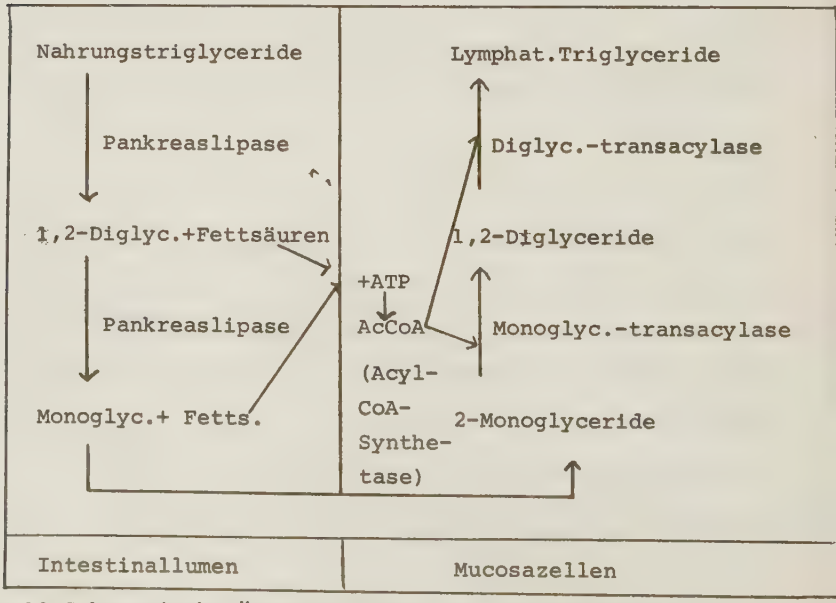


Abb.10 Schematische Übersicht über die Fettverdauung (Desnuelle 27)

Bedeutung der Galle für die Verdauung:

Die Galle wird in der Leber synthetisiert. Sie enthält die für die Fettverdauung wichtigen Salze der Gallensäuren (z.B. Glykocholsäure, Taurocholsäure).

Die Galle bewirkt primär eine Emulgierung der Nahrungsfette, eine Oberflächenvergrößerung und verhindert eine Inaktivierung der Lipase. Sie stimuliert außerdem die Enzymsekretion des Pankreas (32-35) und bewirkt dadurch sekundär eine Steigerung der Lipolyse. Weiterhin ruft sie eine günstige Verschiebung des pH-Optimums in einen schwach sauren Bereich hervor. Außerdem ermöglicht sie durch Bildung der Mizellen die Resorption der Lipide durch die Darmmucosa.

Tab. 6 gibt eine zusammenfassende Übersicht über die Wirkungen der Galle.

1. Emulgierung der Fette
2. Bildung von Mizellen
3. Verhinderung einer Lipaseinaktivierung
4. Einstellung eines optimalen pH-Bereichs
5. Stimulierung der Enzymsekretion des Pankreas
6. Anregung der Dar-mperistaltik
7. Choleretische Wirkung

Tab. 6

Wirkung der Galle

3 : Verdauung der Proteine

Als Eiweißkörper oder Proteine werden hochmolekulare Verbindungen bezeichnet, die bei vollständiger Hydrolyse in Aminosäuren zerfallen.
Die Eiweißkörper können in zwei Gruppen eingeteilt werden, nämlich in die einfachen Eiweißkörper, die Proteine, und in die zusammengesetzten, die Proteide. Die einfachen Eiweißkörper sind nur aus Aminosäuren aufgebaut, während die zusammengesetzten Eiweißkörper Substanzen wie Nucleinsäuren, Kohlenhydrate oder Farbstoffe enthalten können.
Die Eiweißkörper sind im Organismus von besonderer Bedeutung. Als Enzyme katalysieren sie lebenswichtige Vorgänge (63). Sie sind Bestandteile zellulärer und extrazellulärer Strukturen. Im Blut üben sie Transportfunktionen aus, in den Muskelfibrillen bilden sie die kontraktilen Elemente (52).

31 : Vorkommen der Proteine in der Nahrung

Da der Organismus kontinuierlich Stickstoff ausscheidet, Kohlenhydrate und Fette jedoch keinen Stickstoff enthalten, ist eine Zufuhr von Proteinen mit der Nahrung unbedingt erforderlich. Normalerweise sollte ein Erwachsener 70 bis 90 g Eiweiß pro Tag zu sich nehmen. Der Minimalbedarf liegt etwa bei der Hälfte der angegebenen Werte (52).
Dabei ist es nicht nur die aufgenommene Proteinmenge, sondern auch die "biologische Wertigkeit" des Proteins von Bedeutung Diese Wertigkeit wird an der Menge des vom Körper zurückge-

haltenen Proteins gemessen. Von dem Protein des Hühnereies z.B. werden 94% vom Körper zurückbehalten.

Nahrungsmittel	Protein-anteil	Wasser-anteil	Biolog. Wertigkeit %
Kartoffel	3,2	78,3	67
Mais (insgesamt)	7,5	10,3	60
Weizen (insgesamt)	13,8	11,4	67
Kalbfleisch	20,7	73,4	62
Schinken (Schwein)	25,0	60,0	74
Leber (Rind)	20,4	71,2	77
Milch	3,3	87,0	85
Hühnerei (insgesamt)	13,2	73,2	94

Tab. 7

Proteingehalt einiger Nahrungsmittel (nach 8)

Außerdem müssen in den zugeführten Eiweißkörpern genügend essentielle Aminosäuren vorhanden sein, das sind Aminosäuren, die der Organismus nicht zu synthetisieren vermag.
Die essentiellen Aminosäuren und der täglich benötigte Minimalbedarf sind in Tab. 8 aufgeführt.

311 : Chemischer Aufbau der Proteine, Peptide und Aminosäuren

Proteine und Peptide sind aus Aminosäuren aufgebaut. Peptide mit einer Kettenzahl von weniger als 10 Aminosäuren werden als Oligopeptide, solche mit mehr als 10 Aminosäuren als Polypeptide bezeichnet. Proteine bestehen aus Ketten von ungefähr 100 bis 1000 Aminosäuren.

Aminosäure	tägl. Minimalbedarf mM/kg Körpergewicht (bezogen auf eine Gesamtproteinzufuhr von 0,58g/kg Körpergewicht/die)
Valin	0,28
Leucin	0,39
Isoleucin	0,21
Lysin	0,24
Phenylalanin	0,18
Tryptophan	0,04
Methionin	0,07
Threonin	0,20

Tab. 8

Täglicher Minimalbedarf an essentiellen Aminosäuren beim Erwachsenen (Karlson, 52)

Aminosäuren:

Wie schon der Name sagt, haben die Aminosäuren zwei funktionelle Gruppen, nämlich die Aminogruppe $-NH_2$ und die Carbonsäuregruppe -COOH. Die Aminosäuren, die in den Proteinen vorkommen, liegen stets in der α-Form vor.

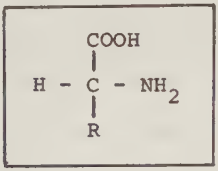
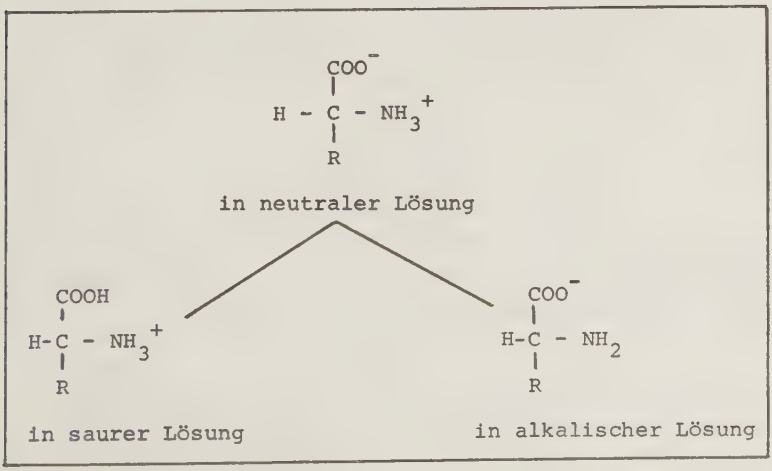


Abb. 11

Allgemeine Formel für eine undissoziierte Aminosäure

Von großer physiologischer Bedeutung ist das amphotere Verhalten der Aminosäuren. In neutraler Lösung liegt die Säure als Zwitterion vor, in saurer Lösung als Kation und in alkalischer Lösung als Anion (siehe Abb.10).



Außer Glykokoll haben alle Aminosäuren ein asymmetrisches C-Atom, d.h. sie sind optisch aktiv. Demnach können zwei sterische Reihen unterschieden werden, die D- und die L-Reihe. Die in den Proteinen vorkommenden Aminosäuren liegen immer in der L-Form vor.

Der Rest R in der Allgemeinformel entscheidet ebenfalls über die Eigenschaften der Aminosäuren. Der Rest kann unpolar sein, d.h. aus einer reinen Kohlenstoffwasserstoffkette bestehen (z.B. Valin, Leucin). Aminosäuren mit polaren Gruppen (z.B. -OH, -SH) sind beispielsweise Serin oder Cystein. Aminosäuren mit einem sauren Rest (-COOH) werden als Aminodicarbonsäuren bezeichnet (z.B. Glutaminsäure). Basische Aminosäuren (Diaminomonocarbonsäuren), bei denen eine zusätzliche basische Gruppe vorhanden ist, sind Arginin, Lysin und Histidin.

Aminosäuren werden über eine Peptidbindung miteinander verknüpft. Dabei reagiert jeweils die Aminogruppe einer Aminosäure mit der Carboxylgruppe einer anderen. Es entstehen Säureamide (Abb. 11).

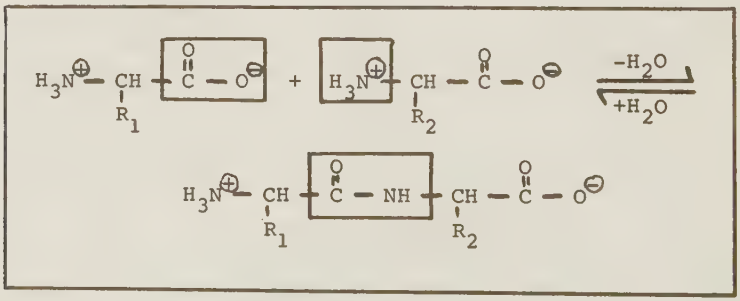


Abb. 13 Peptidbindung

Demnach weisen Peptide normalerweise an den Enden ihrer Kette jeweils eine freie Carboxylgruppe ("C-terminales Ende" und eine freie Aminogruppe ("NH_2-terminales Ende")auf.

Die einzelnen Proteine unterscheiden sich durch die für jedes Protein definierte Aminosäuresequenz (Primärstruktur), durch die verschiedene Anordnung der Ketten im Raum (Kettenkonformation) und durch die Möglichkeit der Aggregation mehrerer Ketten zu ein-em großen Molekül (Quartärstruktur) (52).

32 : Abbau und Resorption der Proteine

Um resorbiert werden zu können, muß das große Proteinmolekül in seine Bestandteile, die Aminosäuren, zumindest aber in kurzkettige Peptide zerlegt werden. Der erste Schritt der Proteinverdauung beginnt mit der Denaturierung des Eiweißes durch den sauren Magensaft. Das denaturierte Protein kann jetzt durch die proteolytischen Enzyme aus Magen, Pankreas und Dünndarm gespalten werden.
Die Proteasen sind - wie die übrigen Verdauungsenzyme - Hydrolasen, sie katalysieren die hydrolytische Spaltung der Peptidbindung (Abb.14).

Abb. 14

Hydrolytische Spaltung der Peptidbindung

Die proteolytischen Enzyme können in Exo- und Endopeptidasen unterteilt werden, die so nach ihrem Angriffspunkt benannt worden sind.

Die Endopeptidasen greifen in der Mitte des Moleküls an, während die Exopeptidasen Aminosäuren am Molekülende abspalten. Die Exopeptidasen werden je nach Angriffspunkt noch einmal unterteilt, und zwar in die Carboxypeptidasen (Spaltung am C-terminalen Ende) und in die Aminopeptidasen (Spaltung am NH_2-terminalen Ende) (Abb. 15).

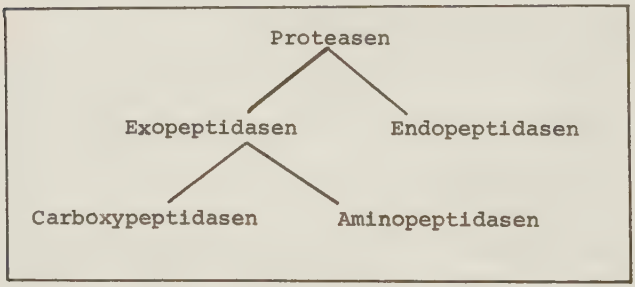


Abb. 15

Einteilung der proteolytischen Enzyme

321 : Proteolytische Enzyme des Magens

Schon Spallanzani konnte 1785 in vitro zeigen, daß Fleisch durch den Magensaft aufgelöst wird (101). Schwann bezog diese Wirkung auf eine spezifische Substanz, die er Pepsin nannte (93). Später wurde die inaktive Vorstufe, das Pepsinogen, in der Magenschleimhaut nachgewiesen (60) und 1930 gelang schließlich Northrop die Darstellung von kristallisiertem Pepsin (74).

Im Cytoplasma der Hauptzellen des Magens wurden Zymogengranula nachgewiesen, die Pepsinogen enthielten. Pepsinogen wird im sauren Magensaft (pH < 5) unter Abspaltung eines Inhibitors aktiviert (105). Die Aktivierung erfolgt autokatalytisch durch Pepsin (Abb. 16).

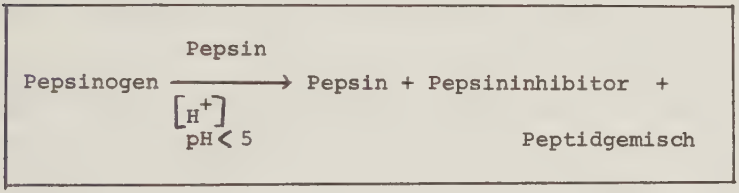


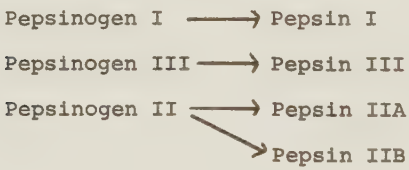
Abb. 16
Aktivierung von Pepsin

Ursprünglich waren zwei proteolytische Enzyme des Magens bekannt, Pepsin (EC 3.4.4.1) und das Labferment (Rennin, EC 3.4.4.3), das nur im Kälbermagen nachgewiesen werden konnte.

Inzwischen wurden jedoch durch mehrere Arbeitsgruppen weitere Proteasen im Magen nachgewiesen. Nach Samloff (89) gibt es bestimmte Kriterien, um eine Protease als Pepsin zu identifizieren: sie muß als inaktives, alkalistabiles Zymogen vorliegen und in Gegenwart von Säure aktiviert werden können. Weiterhin muß die Protease die Milchgerinnung bewirken und bei saurem pH in aktiver Form vorliegen, bei neutralem oder leicht alkalischem pH jedoch inakiviert werden.

3211 : Klassifizierung der proteolytischen Enzyme des Magens

Eine Gruppe um Richmond (84) erhielt durch Chromatographie mit einem Harz-Kationenaustauscher zwei deutliche Gipfel proteolytischer Aktivität. Der erste Gipfel hatte ein Hydrolyseoptimum bei pH 2, der zweite bei pH 3.2; das erste Enzym wurde als Pepsin, das zweite Gastricsin (EC 3.4.4.22) bezeichnet. Gastricsin konnte später isoliert und kristallisiert werden. Säulenchromatographisch wurden zwei Proenzymfraktionen getrennt, und Pepsinigen IA und Pepsinogen IB benannt. Bei Aktivierung von IA wurde sowohl Pepsin als auch Gastricsin erhalten (107).
Eine Gruppe um Seijffers (94) fand durch Säulenchromatographie auf Cellulose 3 Proenzymfraktionen, Pepsinogen I, II und III, deren Aktivierung das folgende Ergebnis brachte:



Kushner (59) erhielt aus der Magenschleimhaut des Menschen bei Agar-Gel-Elektrophorese vier unterschiedliche Fraktionen, von denen sich 3 wie Pepsinogen verhielten. Da die 4. Fraktion nach Aktivierung im neutralen Milieu in Gegensatz zu Pepsin stabil blieb, wurde vermutet, daß es sich um Kathepsin (EC 3.4.4.9) handeln könnte (88).

Versuch der Korrelierung:
Die Pepsinogene mit der größten elektrophoretischen Beweglichkeit sind die sauren. Bande IV bei Kushner, die Bande mit der langsamsten Beweglichkeit, entspricht dem Kathepsin C. Bande III bei Kushner scheint mit Pepsinogen I bei Seijffers (94) übereinzustimmen, Bande II mit dem Pepsinogen II und III.

Pepsin C von Ryle (87) ist analog dem Pylorus-Enzym von Taylor (105), analog dem Pepsinogen I von Seijffers (94) und dem Pepsinogen II von Kushner (59). Pepsin B von Ryle ist wahrscheinlich Gelatinase. Analog dem Fundusenzym Taylors (105) sind Pepsinogen II oder III bei Seijffers (94) und Pepsinogen II bei Kushner (59).
Kürzlich wurden von Samloff (88) durch Agar-Gel-Elektrophorese 8 Pepsinogene getrennt. Demnach enthalten Körper und Fundus des menschlichen Magens 8 Proteasen. Das in der Elektrophorese am schnellsten wandernde Protein zeigte eine diffuse Bande mit proteolytischer Aktivität, die anderen 7 zeigten scharf begrenzte Banden, ebenfalls mit proteolytischer Aktivität. Bei Ansäuerung auf pH 2.0 bei 37°C und anschließender Alkalisierung wurden die 7 Fraktionen mit der schnellsten Wanderungsgeschwindigkeit zerstört, was sie als Pepsinogene auswies ("Pepsinogen 1 bis 7"). Fraktion 8, die dem Pepsinogen IV bei Kushner entsprach ist - wie schon erwähnt - wahrscheinlich kein Pepsinogen sondern Kathepsin (88). Jedes dieser Pepsine hatte eine maximale Aktivität bei pH 1.8. Die Pepsinogene 1 bis 5 zeigten zusätzlich bei pH 5 bis 7 schwache proteolytische Aktivität. Die Pepsinogene 2 bis 5 sind demnach relativ alkalistabil.

Abb. 17 soll die Zusammenhänge verdeutlichen.

Samloff (88)	Kushner (59)	Seijffers et al. (94)	Richmond (84)
Magensekret Mensch	Magensekret Mensch	Magensekret Mensch	Magensekret Mensch
Agar-Gel-Elphor.	Agar-Gel-Elphor.	Diäthyl-amino-äthyl-cellu-lose-Elph.	Harz-Chroma-tographie

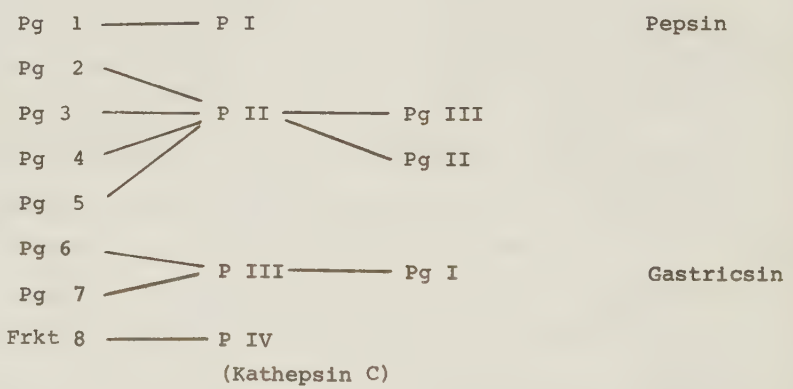


Abb. 17

Nomenklatur und Korrelierung der verschiedenen Pepsinogene (Pepsine) beim Menschen (nach Samloff, 88)

Nach Samloff (89) besteht, trotz der vielen unterschiedlichen Ergebnisse Einigkeit darüber, daß einige Pepsinogene nur in der Mucosa des Fundus nachgewiesen werden können, andere nur im Antrum und im proximalen Duodenum. Danach teilt er die Pepsinogene

in zwei Gruppen ein: Gruppe I sind die Pepsinogene des Fundus, Gruppe II die Pepsinogene des Antrums und proximalen Duodenums (vgl. Abb. 18).

	Gruppe I Pepsinogene	Gruppe II Pepsinogene
Seijffers et al.	Pg II Pg III	Pg I
Kushner et al.	P I P II	P III
Samloff	Pg 1, Pg 2, Pg 3, Pg 4, Pg 5	Pg 6 Pg 7

Abb. 18

Einteilung der Pepsinogene in zwei Gruppen (nach Samloff, 89)

Pepsinogen und Pepsin scheinen demnach beim Menschen in verschiedenen molekularen Formen vorzuliegen, die z.T. durch Peptidspaltungen während der Aktivierung aus einem oder wenigen Grund-Pepsinmolekülen entstanden sein dürften. Es ist deshalb vorerst problematisch, über Molekulargewicht, Angriffspunkt und pH-Optimum von Pepsin vom Menschen zu berichten.

Auch beim Schwein wurden mehrere Arten von Pepsin getrennt, nämlich Pepsin A, B und C (105). Kristallisiertes Pepsinogen A und Pepsin A vom Schwein wurden schon eingehend untersucht. Deshalb beziehen sich die folgenden Angaben in der Regel auf diese Präparationen.

3212 : Struktur des Pepsinogen- und Pepsinmoleküls

Pepsinogen hat ein Molekulargewicht von 42600 (52), nach der Aminosäurenzusammensetzung berechnet.
Das aktive Enzym hat ein Molekulargewicht von 35000 nach osotischer Druckmessung (105), 35500 bei Ultrazentrifugation, 34500 und 34800 berechnet nach seinem Phosphatgehalt und 36400 nach der Aminosäurenanalyse (105). Dies gilt, wie oben erwähnt, nicht für Pepsin vom Menschen, da dessen Molekulargewicht noch nicht bestimmt werden konnte.

Bei einem pH 5 und bei Einwirkung von Pepsin entsteht das aktive Enzym (52, 105); es ist möglich, daß hierbei auch H^+-Ionen als Katalysatoren wirken (66). Bei dieser Aktivierung wird ein Teil der Kette des Pepsinogens abgetrennt, wobei ein Pepsin-Inhibitor und 5 verschiedene Peptide entstehen (46).

Der Inhibitor besteht aus einer geraden Kette von 29 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 3 242 (105). Die NH_2-terminale Aminosäure ist Leucin. Der Inhibitor hemmt das Pepsin bei einem pH von 5 - 6. Unter pH 5 dissoziiert der Pepsin-Inhibitor-Komplex, wobei der Inhibitor zerstört wird (46,8,105).

Die Aminosäurezusammensetzung des Pepsins, des Pepsinogens und des Inhibitors ist in Tab. 9 aufgeführt (nach Bovey, 17).

Aminosäure	Pepsinogen (111)	Pepsin (9)	Inhibitor (110)
Asp-S	46	44	4
Glu	32	27	2
Gly	36	38	1
Ala	27	18	2
Val	27	21	2
Ileu	64	27	5
Leu		28	
Ser	53	44	2
Thre	25	28	1
Cys	6	6	-
Meth	5	5	-
Pro	20	15	3
Pro-OH	-	0,1	-
Phe	20	14	1
Try	6	6	1
His	4	1	-
Lys	12	1	4
Arg	3	2	1
Amide-NH_3	39	36	-
Phosphate	1	1	-
Tyr	16	18	1

Tab. 9

Aminosäurezusammensetzung des Pepsins, des Pepsinogens und des Inhibitors nach Bovey (17)

Nach Rajagopalan (82) ist Pepsinogen vom Schwein aus 363, Pepsin aus 321 Aminosäureresten aufgebaut.
Durch Endgruppensequenzanalyse am Pepsinogen vom Schwein wurde die Sequenz des NH_2-terminalen Endes des Moleküls aufgestellt:

```
 1                5                  10
Leu-Val-Lys-Val-Pro-Leu-Val-Arg-Lys-Lys-Ser-Leu-Arg-Gln-

  15                  20                  25
Asn-Leu-Ileu-Lys-Asp-Gly-Lys-Leu-Lys-Asp-Phe-Leu-Lys-Thre-

     30                  35                  40
His-Lys-His-Asn-Pro-Ala-Ser-Lys-Tyr-Phe-Pro-Ala-Glu-
```

Abb. 19

Aminosäuresequenz des NH_2-terminalen Endes des Pepsinogens für die 1. bis 41. Aminosäure (nach Ong, 79).

Auffallend ist das Auftreten zweier basischer Regionen: Arg-Lys-Lys und His-Lys-His. 9 Lysin konnten in bestimmte Positionen gebracht werden und ermöglichten so eine Abschätzung ihrer Reaktivität und ihre Verteilung für die Stabilisierung des Pepsinogenmoleküls. Bei der Aktivierung zu Pepsin werden 41 Aminosäuren freigesetzt; wahrscheinlich wird die Spaltung zwischen Glutaminsäure und Isoleucin, also zwischen den Resten 41 und 42 durchgeführt, da Isoleucin die N-Endgruppe des Enzyms ist (79).
Der Isoelektrische Punkt liegt gewöhnlich unter 1, was durch eine Phosphorsäuregruppe (nach 40) 1 Äquivalent Phosphat/Mol) im Molekül bewirkt wird. Das pH-Optimum liegt bei 1.5 bis 2.5 (105).

Sekundär- und Tertiärstruktur:

Da es für das Proenzym und das Enzym nur eine NH_2- und eine C-terminale Gruppe gibt, besteht wahrscheinlich jedes Molekül aus einer einfachen unverzweigten Peptidkette (105). Pepsinogen hat eine niedrige innere Viskosität, die sich bei Reduktion einer der drei im Molekül befindlichen Disulfidbrücken wenig ändert, bei Reduktion der zweiten Bindung jedoch ansteigt. Bei Reduktion der dritten Disulfidbindung geht die enzymatische Aktivität verloren; diese Bindung kann allerdings nur sehr schwer gespalten werden (46, 105). Die niedrige innere Viskosität zeigt an, daß die Kette gewunden ist und durch die Disulfidbrücken in ihrer Lage gehalten wird.

Pepsin ist ebenfalls ein Einkettenpeptid. Dispersionsmessungen lassen vermuten, daß in der aktiven Form wenig helicale Windungen existieren. Die Kette soll zu einem kugeligen Körper gefaltet sein. Bei der Denaturierung (Zunahme der inneren Viskosität) wird wahrscheinlich das kugelige Molekül aufgerollt (29).

Bezüglich des Reaktionsmechanismus nehmen Bovey et al. (17) an, daß ein Enzym-Substrat-Komplex gebildet wird, in dem die beiden Seitengruppen des Substrates mit dem Enzym eine Bindung eingehen (Abb.20). Eine aktive, ionisierte Carboxylgruppe des Enzyms reagiert mit der Peptidbindung des Substrates, indem sie die N-terminale Aminosäure (mit dem Rest R) freisetzt und die C-terminale Aminosäure über deren Aminogruppe an die Carboxylgruppe des Enzyms bindet. Anschließend wird dann die Carboxylgruppe (mit dem Rest R') hydrolytisch abgespalten (Abb. 20).

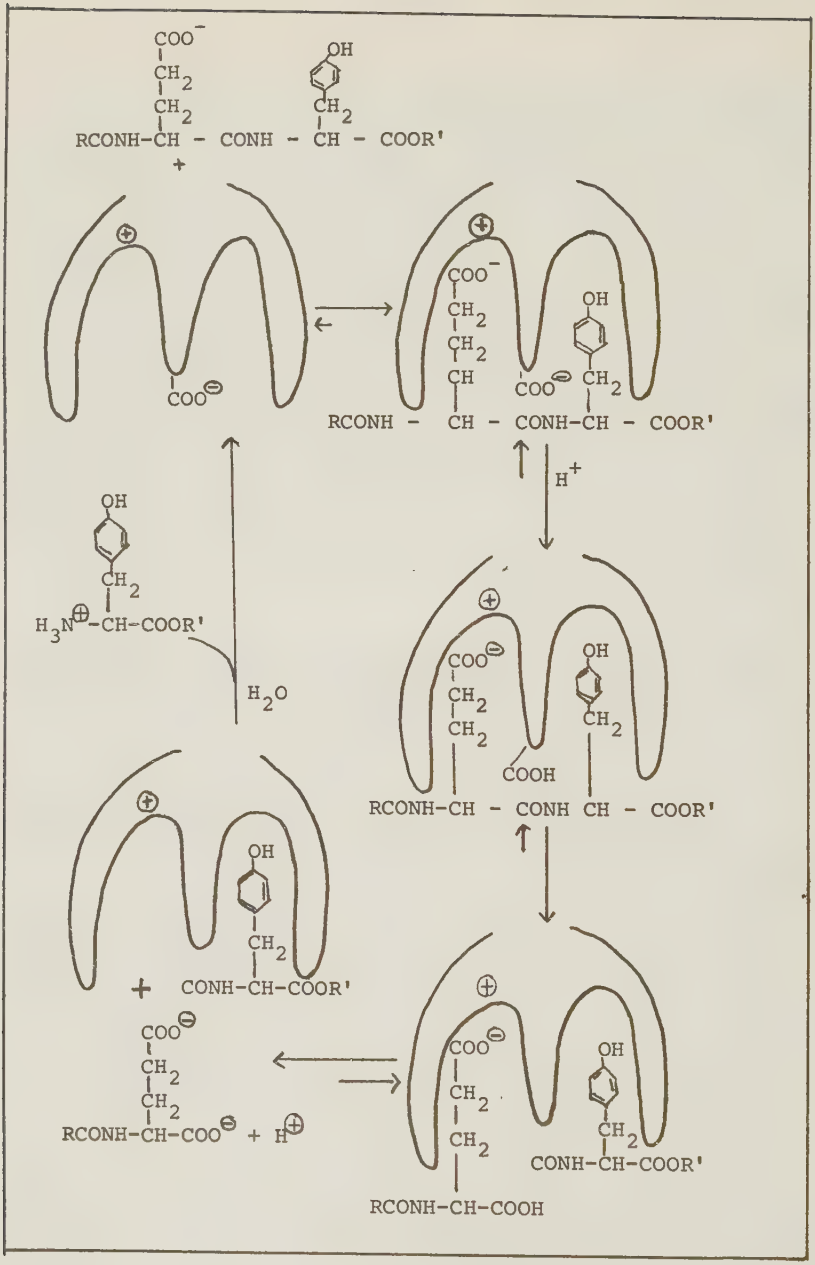


Abb. 20

Reaktionsmechanismus des Pepsins (nach Bovey, 17)

3213 : Wirkung von Pepsin bei der Eiweißverdauung

Pepsin ist eine Endopeptidase. Sie spaltet die Peptidkette der Proteine in größere Bruchstücke. Die an der Peptidbindung beteiligten Aminosäuren müssen in L-Konfiguration vorliegen (66).

Pepsin greift die meisten natürlichen Proteine an, nicht aber Keratin, Mucine und Protamin. Gut untersucht ist die Spaltung von Insulin (Abb.21). Die Peptidbindungen dieses Moleküls, an denen die Carboxylgruppen von Phenylalanin, Tyrosin und Leucin beteiligt sind, werden am schnellsten gespalten (105,46). Weniger schnell geht die Spaltung bei Glutaminsäure von statten. Pepsin kann auch synthetische Peptidderivate, die Phenylalanin oder Tyrosin enthalten, hydrolisieren (105).

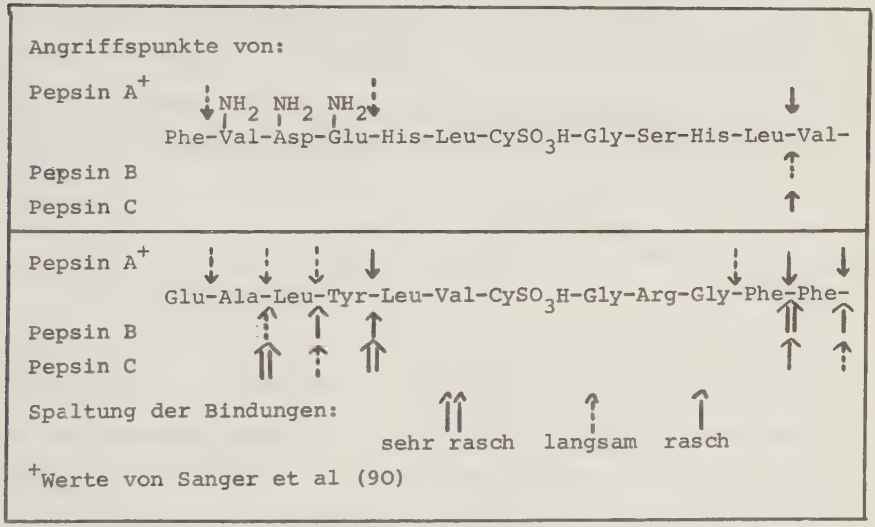


Abb. 21

Wirkung von Pepsin A, B und C vom Schwein am Beispiel der Spaltung der B-Kette des oxydierten Insulins (nach Ryle et al. (87) aus Laskowski et al. (62))

Pepsin spaltet vornehmlich denaturiertes Eiweiß. Das mit der Nahrung zugeführte native Eiweiß wird durch die Magensäure denaturiert. Unter besonderen Umständen kann Pepsin allerdings auch körpereigene Proteine angreifen (pept. Ulcus? (12)). Gegen die Verdauung durch Pepsin bildet das Mucin einen natürlichen Schutz (107), indem es die Pepsin-Aktivität durch bis jetzt unbekannte Mechanismen hemmt (64, 21, 107).

3214 : Nachweismethoden für Pepsin

Am weitesten verbreitet ist die Methode von Anson und Mirsky (3) mit Rinderhämoglobin als Substrat. Pepsin spaltet Hämoglobin in Bruchstücke, die in Trichloressigsäure löslich sind. Die Extinktionszunahme bei 280 nm ist ein Parameter für die Pepsinaktivität, die durch Vergleich mit einer Eichkurve mit kristallisiertem Pepsin ermittelt werden kann. Anstelle von Hämoglobin können auch Casein oder synthetische Substrate verwendet werden (19,30,6,7,106).

322 : Proteolytische Enzyme des Pankreas

Der Verdauungsbrei gelangt vom Magen in den Dünndarm, wo die proteolytischen Enzyme des Pankreas das Protein-Peptidgemisch weiter abbauen. Diese proteolytischen Enzyme werden in den Acinuszellen des Pankreas synthetisiert.
Trypsin, die Chymotrypsine und Elastase sind Endopeptidasen, die Carboxypeptidasen A und B werden zu den Exopeptidasen ge-

rechnet. Die Aktivierung des Trypsinogen zu Trypsin wird durch die Enteropeptidase hervorgerufen (früher Enterokinase, EC 3.4.4.8). Trypsin selbst hat autokatalytische Wirkung und aktiviert auch die übrigen Zymogene.

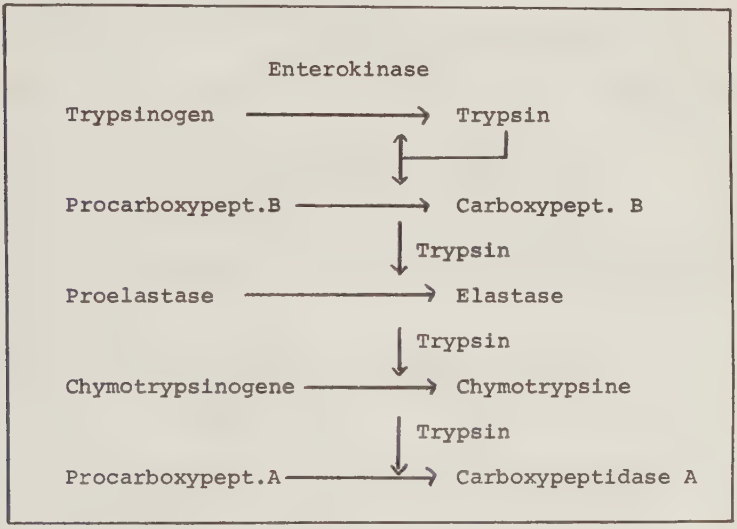


Abb. 22

Aktivierung der Zymogene des Pankreas (nach Keller (55))

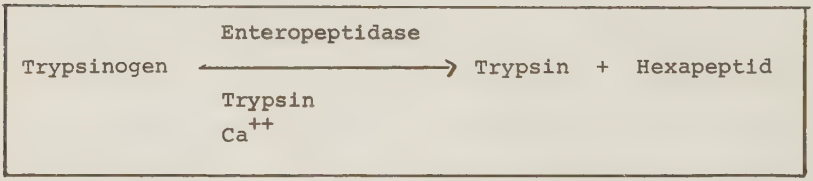
Die genannten Enzyme ergänzen sich in ihrer hydrolytischen Wirkung, so daß die Proteine und Polypeptide in kurzkettige Peptide und Aminosäuren gespalten und anschließend von der Dünndarmschleimhaut resorbiert werden können.

3221 : Trypsinogen und Trypsin

Trypsin und Trypsinogen wurden von Northrop und Kunitz in kristallisierter Form aus dem Pankreas des Rindes erstmals dargestellt (75, 76, 77).

32211: Aktivierung von Trypsinogen

Da im Pankreas selbst die Autokatalyse durch Inhibitoren verhindert wird, indem diese einen inaktiven Trypsin-Inhibitor-Komplex bilden, geschieht die Aktivierung zu dem aktiven Enzym im Darm. Wie schon erwähnt, kann Trypsinogen durch die Enteropeptidase oder autokatalytisch aktiviert werden.



Abbs. 23
Aktivierung von Trypsinogen zu Trypsin

Das dabei entstehende Hexapeptid hat folgende Aminosäuresequenz:

Val-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (52, 55).

Die autokatalytische Wirkung tritt bei neutralem pH und in Gegenwart von Ca^{++}-Ionen ein. Die Ca-Ionen beschleunigen den Aktivierungsprozeß (ohne Ca nur halbe Aktivierungsrate) und verhindern vermutlich die Autolyse (46, 55). Haverback et al. (42) haben diese Ergebnisse noch einmal bestätigt: bei Humantrypsin

findet ohne Ca^{++}-Ionen keine Aktivierung statt.
Die Aktivierung geschieht durch die Spaltung einer einfachen Bindung zwischen Lysin und Isoleucin des Proenzyms. Durch die Abspaltung des Hexapeptides entsteht eine neue N-terminale Gruppe, nämlich Isoleucin. Während der Aktivierung ändert sich auch die optische Drehung im Sinne einer stärkeren Helixbildung.

32212 : Struktur und chemische Eigenschaften

Trypsinogen vom Rind hat ein Molekulargewicht von ungefähr 24 000 und besteht aus einer einfachen Polypeptidkette von 229 Aminosäuren (55).
Trypsin (vom Rind) hat ein Molekulargewicht von 23 800 (8). Sein pH-Optimum liegt zwischen pH 7 und pH 9 (52), der isoelektrische Punkt bei pH 7 bis 10.8. Maximale Stabilität besitzt das Enzym bei pH 2.3, da hier die autokatalytische Tätigkeit am langsamsten ist (19).
Die Sequenz der 223 Aminosäuren ist bekannt. Im aktiven Zentrum befindet sich ein Ser-Rest, dessen Hydroxylgruppe an der Spaltung beteiligt ist. Wahrscheinlich wird dieser Serin-Rest durch die Nachbarschaft der Disulfidbrücke und des Prolin in besondere räumliche Lage zu den zwei Histidinresten gebracht, die an der Katalyse beteiligt sind (52).

32212 : Wirkungen des Trypsins

Da Trypsin, wie oben erwähnt, eine Endopeptidase ist, spaltet sie in der Mitte des Moleküls (Abb. 24).

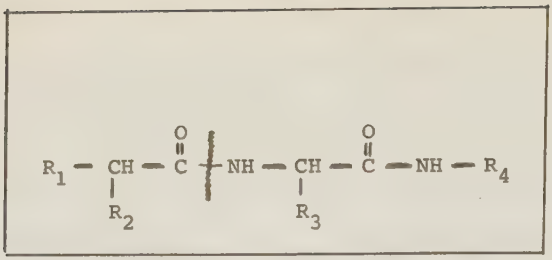


Abb. 24
Angriffspunkt der Endopeptidase

Trypsin zeigt eine sehr hohe Spezifität: es hydrolysiert bevorzugt Peptidbindungen, an denen Arginin oder Lysin mit ihrer Carboxylgruppe beteiligt sind (Abb. 25).
Auch synthetische Substrate werden von Trypsin angegriffen. Trypsin spaltet Peptid-, Amid- oder Ester-Bindunge, an denen Arginin oder Lysin mit ihrer Carboxylgruppe beteiligt sind (55).

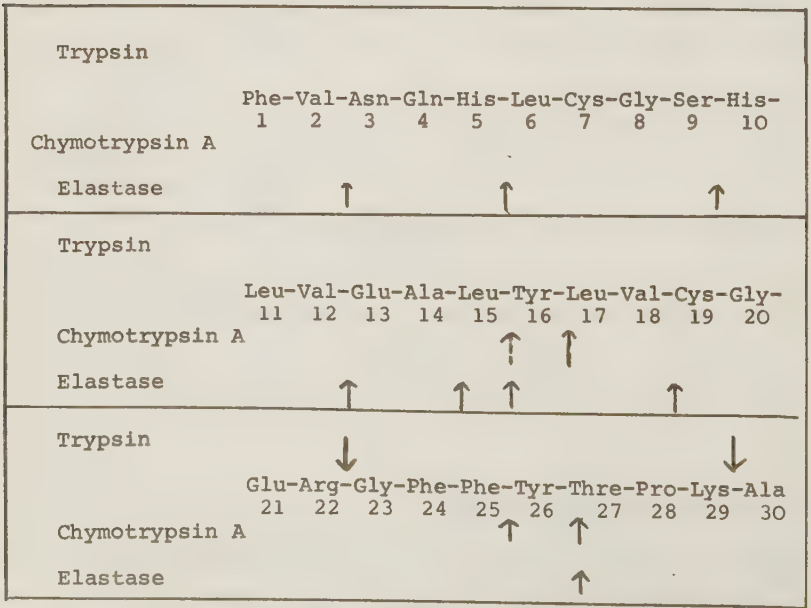


Abb. 25 Spaltung der B-Kette des Insulin durch Trypsin,

32214 : Trypsininhibitoren

Vor der Selbstverdauung durch Proteasen schützt sich der Organismus mit Inhibitoren. Im Pankreas konnte ein spezifischer Trypsininhibitor nachgewiesen werden, der die Aktivität des Trypsin durch Bildung eines inaktiven Komplexes hemmt (78). Diese Komplexbildung findet bei neutralem oder alkalischem pH statt, im sauren Milieu kommt es zu einer Dissoziation (33).

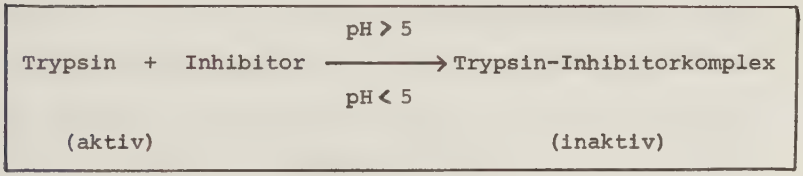


Abb. 26
Komplexbildung des Trypsininhibitors mit Trypsin

Das Molekulargewicht dieses Inhibitors beträgt beim Rind nach Fritz und Mitarb. (36) 5919. Im Duodenum wird der Inhibitor durch eine große Trypsinmenge zerstört, es findet also nur eine "temporäre Hemmung" statt (37).
Von Kunitz und Northrop wurde ein weiterer Inhibitor aus dem Pankreas gewonnen und kristallisiert (57), der neben Trypsin auch Chymotrypsin, Plasmin und Kallikrein inaktiviert (114, 61, 53, 54).
Trypsin wird durch Organophospate und Substratanaloge gehemmt, indem diese mit dem aktiven Zentrum des Enzyms eine

irreversible Bindung eingehen. Es gibt auch Peptide, die Trypsin kompetitiv hemmen, d.h., die mit natürlichen Substraten um das Enzym konkurrieren. Als synthetische Inhibitoren sind die ε-Aminocapronsäure und die p-Amino-Benzoesäure bekannt. Diese hemmen nicht das Trypsin selbst, sondern die Aktivierung über die Enterokinase und die Atuokatalyse. Trypsin kann außerdem durch Proteolyse inaktiviert werden (46).

32215 : Nachweismethoden für Trypsin

Zum Nachweis für Trypsin können als natürliche Substrate Casein (Methode nach Kunitz, 58) oder Hämoglobin (Methode nach Anson, 4, 39) verwendet werden. Die Zunahme der in Trichloressigsäure löslichen Peptide kann dann spektrophotometrisch oder kalorimetrisch nach Anfärben bestimmt werden. Diese Zunahme dient als Parameter für die Trypsinkonzentration, die anhand einer Eichkurve abgelesen werden kann.

Daneben werden auch synthetische Substrate zum Nachweis herangezogen. Bei der Methode nach Haverback und Mitarb. (42) wird beispielsweise N$^{\alpha}$-Benzoyl-DL-Arginin-p-Nitroanilid (BAPNA) verwendet. Trypsin spaltet von diesem Substrat p-Nitroanilid ab, dessen Konzentration photometrisch gemessen werden kann.

3222 : Chymotrypsinogen und Chymotrypsin

Die Chymotrypsine haben eine große molekulare und enzymatische Ähnlichkeit zu Trypsin. Wie diese katalysieren sie die Hydrolyse von Peptid-, Ester- und Amidbindungen. 1930 gelang Northrop die Kristallisierung des Proenzyms, das nach Aktivierung durch Trypsin seine katalytische Aktivität erlangte; es wurde Chymotrypsin genannt.

Später wurden aus dem Rinderpankreas zwei Zymogene isoliert, das kationische Chymotrypsinogen A, bzw. Chymotrypsin A (EC 3.4.4.5) (78) und das anionische Chymotrypsinogen B bzw. Chymotrypsin B (EC 3.4.4.6) (56, 18).

Aus dem Schweinepankreas (28) wurde neben Chymotrypsin A ein Chymotrypsin C isoliert, das sich in seinen molekularen und enzymatischen Eigenschaften von den beiden anderen Chymotrypsinen unterscheidet.

Tabelle 10 gibt eine Übersicht über die Aminosäurezusammensetzung der verschiedenen Chymotrypsinogene (nach 46).

Aminosäuren	Chymotrypsinogen A vom Rind	Chymotrypsinogen B vom Rind	Chymotrypsinogen C vom Schwein
Ala	22	20-21	20-21
Arg	4	5	5
Asp	22	19	18
Glu	14	16	12
Gly	23	20	19
His	2	2	2
Ileu	10	8	9
Leu	19	17	17
Lys	13	10	10
Meth	2	4	2
Phe	6-7	6	5
Pro	9	12	12-13
Ser	30	18-19	21-22
Thre	23	20	19
Tyr	4	3	4
Val	22	21	22
Try	7	6	7
Cys	10	8	-
Amide	24	15	14

TAB. 10

Aminosäurenzusammensetzung einiger Chymotrypsinogene nach 46)

32221 : Struktur und chemische Eigenschaften

Chymotrypsinogen A vom Rind hat ein Molekulargewicht von 25 761. Das Molekül besteht aus 245 Aminosäuren, deren Sequenz bekannt ist. Im Molekül, das aus einer einfachen Polypeptidkette aufgebaut ist, befinden sich fünf Disulfidbrücken. Auffällig ist die Ähnlichkeit in Struktur und Aminosäurenzusammensetzung mit Trypsinogen (55).

32222 : Aktivierung

Chymotrypsinogen kann nur durch Trypsin zu Chymotrypsin aktiviert werden. Bei der Spaltung von Chymotrypsinogen durch Chymotrypsin werden nur inaktive Derivate erhalten, "Neochymotrypsinogene", die allerdings durch Trypsin wiederum aktiviert werden können (86, 26).

Bei der Aktivierung von Chymotrypsinogen A können verschiedene aktive Chymotrypsine entstehen. Wird Chymotrypsinogen langsam, d.h. durch kleine Mengen Trypsin aktiviert, so entsteht α-Chymotrypsin, das sich anschließend autokatalytisch in β-Chymotrypsin und γ-Chymotripsin umwandelt (62). Bei schneller Aktivierung (große Mengen Trypsin) entstehen zunächst zwei aktive Zwischenformen, π- und δ-Chymotrypsin und dann erst α-Chymotrypsin.

Die verschiedenen Chymotrypsine entstehen durch die Spaltung des Chymotrypsinogenmoleküls an verschiedenen Peptidbindungen. π-Chymotrypsin entsteht bei der Spaltung durch Trypsin zwischen Arginin[15] und Isoleucin[16]. Nach Lösung der Bindung

zwischen Serin[13] und Leucin[14] durch das aktive Enzym selbst, wird das Dipeptid Serin-Arginin abgespalten. Es entsteht δ-Chymotrypsin. Durch weitere Spaltung der Kette zwischen Position 146 und 147 bzw. 148 und 149 wird dann unter Abspaltung des Dipeptides Threonin-Asparaginsäure α-Chymotrypsin erhalten (81).

Die Aktivierung von Chymotrypsinogen B verläuft schneller. Es erfolgt lediglich eine Spaltung zwischen Arginin[15] und Isoleucin[16].

32223 : Wirkungsweise der Chymotrypsine

Die optimale Wirksamkeit der Chymotrypsine liegt bei pH 8 bis 9. Die Größe und die Zusammensetzung der Peptidkette übt ebenfalls einen Einfluß auf die Hydrolyserate der Chymotrypsine aus.

Die Spezifität von Chymotrypsin A ist am stärksten ausgeprägt. Es spaltet nur Phenylalanin-, Tyrosin- und Tryptophan-Bindungen. Chymotrypsin B greift zusätzlich Leucin-Bindungen an und Chymotrypsin C darüber hinaus auch noch Glutamin- und Methionin-Bindungen (55, 8, 31).

Neben Peptidbindungen natürlicher Substrate werden von den Chymotrypsinen auch entsprechende Peptid-, Amid- oder Ester-Bindungen synthetischer Substrate gespalten.

Die Angriffspunkte der drei Chymotrypsine sind am Beispiel von Glucagon aufgezeigt (Abb. 27).

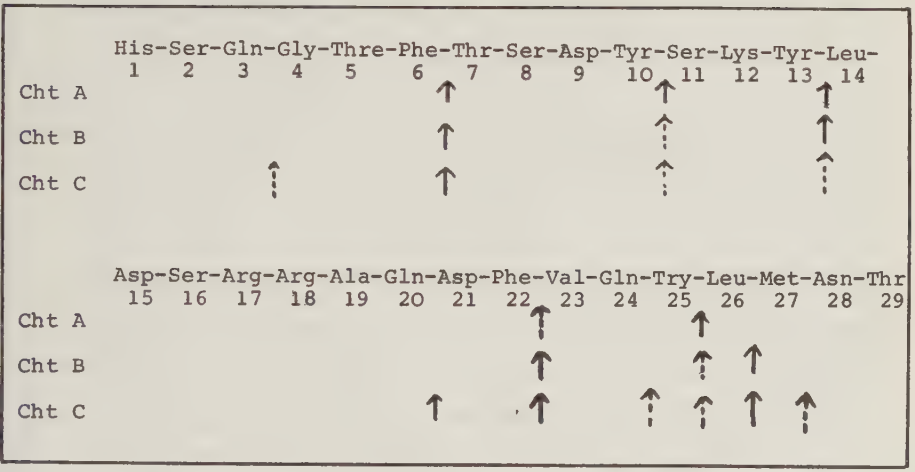


Abb. 27

Angriffspunkte der verschiedenen Chymotrypsine an Glucagon (46)

32224 : Inhibitoren

Die Chymotrypsine können ebenfalls von bestimmten Protease-Inhibitoren inaktiviert werden (vgl. oben). Durch Diisopropyl-fluorphosphat kann - in vitro - eine Hemmung von Chymotrypsin bewirkt werden (72).

3223 : Elastase (EC 3.4.47)

Die Elastase ist eine Endopeptidase, die 1952 aus Rinderpankreas kristallisiert werden konnte. Sie besteht vermutlich aus zwei Komponenten, aus einer proteolytischen und einer mucolytischen, die zusammen "Elastase-Komplex" genannt werden.

Das Enzym wird ebenfalls als inaktives Proenzym sezerniert und durch Trypsin aktiviert.
Gereinigte Elastase zeigt eine relativ breite Spezifität (70). Sie spaltet bevorzugt Peptidbindungen, an denen die Carboxylgruppen von unpolaren, aliphatischen Aminosäuren beteiligt sind (55).
Die Elastase ist wie die anderen Endopeptidasen des Pankreas eine "Serin-Proteinase". Im aktiven Zentrum dieser Enzyme befindet sich ein Serin-Rest. Histidin bildet die andere Komponente (des aktiven Zentrums). Die Peptidsequenz dieses Zentrums ist für Trypsin, Chymotrypsin und Elastase identisch.

Das aktive Histidin ist ebenfalls in homologer Sequenz mit einem anderen Histidin verbunden. Die primäre Aminogruppe des NH_2-terminalen Endes scheint in das aktive Zentrum einbezogen zu werden. Isoleucin ist die NH_2-terminale Aminosäure bei Trypsin und Chymotrypsin. Valin bildet das NH_2-terminale Ende bei der Elastase (55). Der Verlust der enzymatischen Aktivität ist direkt proportional dem Verlust an primären Aminogruppen (z.B. durch Natriumnitrit) (55).

3224 : Carboxypeptidasen

Carboxypeptidasen sind proteolytische Enzyme, die am Carboxylende von Proteinen und Peptiden angreifen.
Die Isolierung einer Procarboxypeptidase gelang schon 1937. Im Pankreassekret wurde neben Carboxypeptidase A eine weitere Carboxypeptidase nachgewiesen, die eine von Carboxypeptidase A verschiedene Spezifität aufweist, Carboxypeptidase B.

32241 : Carboxypeptidase A (EC 3.4.2.1)

Die Carboxypeptidase A liegt im Pankreas als inaktive Vorstufe (Procarboxypeptidase A) vor.
Das Zymogen hat die meisten sauren Komponenten von allen proteolytischen Enzymen des Pankreas. Der isoelektrische Punkt liegt ungefähr bei pH 4.5. Das Molekül enthält ein g Atom Zink/Mol Protein (55, 72). Procarboxypeptidase A vom Schwein wird durch Trypsin zu Carboxypeptidase A aktiviert. Schwieriger sind die Verhältnisse beim Rind. Das Zymogen liegt hier in Form eines sogenannten Procarboxypeptidase A -Komplexes vor, bei dessen Aktivierung neben Carboxypeptidase A auch eine chymotrypsinwirksame Endopeptidase (entsprechend dem Chymotrypsin C vom Schwein) entsteht. Durch Sedimentation (6 Svedberg) und anschließende Chromatrographie konnte der Procarboxypeptidase A-Komplex in drei Fraktionen getrennt werden. Nach Aktivierung wurde aus Fraktion I Carboxypeptidase A und aus Fraktion II Chymotrypsin erhalten (55). Das Molekulargewicht von Procarboxypeptidase A vom Rind ist deshalb auffällig hoch (87 080) (115). Die Carboxypeptidase A vom Rind hingegen hat ein Molekulargewicht von 34 300 (71).
Carboxypeptidase A spaltet bevorzugt Peptide mit aromatischen oder unpolaren Aminosäuren in C-terminaler Position, alsodie Spaltprodukte des Chymotrypsins.
Elektrisch geladene Gruppen in der Nähe des C-terminalen Endes hemmen die proteolytische Aktivität (55).

Das Enzym greift auch Esterbindungen an, an denen aromatische oder auch aliphatische Aminosäuren beteiligt sind (z.B. Alanin, Isoleucin).

32242 : Carboxypeptidase B (EC 3.4.2.2)

Die Carboxypeptidase B liegt ebenfalls in inaktiver Vorstufe vor. Im Gegensatz zur Procarboxypeptidase A und Carboxypeptidase A (vom Rind) sind Procarboxypeptidase B und Carboxypeptidase B chromatographisch homogene Proteine. Das Molekulargewicht der Carboxypeptidase B vom Schwein beträgt 34 600 (40). Es ist ein Zinkproteid.
Carboxypeptidase B spaltet bevorzugt basische Aminosäuren (wie Lysin, Arginin) in C-terminaler Position, also Produkte der Hydrolyse durch Trypsin (55).
Die Aktivität der Carboxypeptidasen wirddurch die freien α-NH_2-Gruppen der Dipeptide gehemmt (40).

Endopeptidasen:	Trypsin ↓ Spaltprodukt: Peptide mit basischen Aminosäuren in C-terminaler Position ↓ Substrat für:	Chymotrypsin ↓ Spaltprodukt: Peptide mit aromatischen Aminosäuren in C-terminaler Position ↓ Substrat für:	Elastase ↓ Spaltprodukt: Peptide mit unpol. Aminosäuren in C-terminaler Position ↓ Substrat für:
Exopeptidasen:	Carboxypeptidase B	Carboxypeptidase A	Carboxypeptidase A

Abb. 28

Zusammenwirken der proteolytischen Enzyme bei der Verdauung

323 : Proteolytische Enzyme des Dünndarms

Es sind viele Peptidasen im Dünndarm beschrieben worden, homogene Präparationen dieser Enzyme sind aber bislang noch nicht geglückt. Diese Enzyme haben die Aufgabe, kurzkettige Peptide in die Aminosäurebausteine zu spalten (83). Die für die Verdauung bedeutsamen Dünndarmpeptidasen werden in Aminopeptidasen und Dipeptidasen unterteilt.

3231 : Aminopeptidasen

Wie die Carboxypeptidasen sind die Aminopeptidasen Exopeptidasen. Sie spalten vom NH_2-terminalen Ende des Peptides die endständige Aminosäure ab. Aminopeptidasen wurden in verschiedenen Organen, wie Leber oder Niere, in Sekreten wie Galle und Harn, hauptsächlich aber in den Epithelzellen des Dünndarms nachgewiesen.
Viele Aminopeptidasen brauchen für eine optimale Wirkung Metallionen wie Mn^{++}, Mg^{++}, Co^{++} (41).
Die Leucinaminopeptidase (EC 3.4.1.1) spaltet unabhängig von der Kettenlänge des Substrates bevorzugt Leucin, aber auch Isoleucin, Valin und Alanin vom NH_2-terminalen Ende der Peptide ab. Daneben wurden im Dünndarmepithel eine Aminopolypeptidase (EC 3.4.1.2) mit breiter Substratwirkung (92, 50) und eine Aminotripeptidase (EC 3.4.1.3), welche fast ausschließlich freie Tripeptide spaltet, gefunden.

3232 : Dipeptidasen

Der Name dieser Enzyme ist schon ein Hinweis auf ihre Spezifität. Sie brauchen Dipeptide als Substrate, die eine freie Carboxyl- und eine freie Aminogruppe aufweisen. Sie benötigen für ihre optimale Wirkung ebenfalls Metallionen. Man nimmt an, daß sich dabei Metallkomplexe bilden, welche die Elektronenkonfigurationen ändern; es wäre aber auch möglich, daß das Metall mit der Carboxylgruppe reagiert und dadurch die Bindung auflockert. Dipeptidasen können nicht nur in der Darmmucosa, sondern auch in verschiedenen anderen Orga-

nen nachgewiesen werden. Je nach ihrer Substratspezifität unterscheidet man Glycyl-Glycin-Dipeptidase (EC 3.4.3.1) (71), Glycyl-L-Leucin-Dipeptidase (EC 3.4.3.2) (99), Prolinase (EC 3.4.3.6) und Prolidase (EC 3.4.3.7) (1).

324 : Resorption der Spaltprodukte

Die Resorption der Aminosäuren und kurzkettigen Peptide erfolgt unter physiologischen Bedingungen hauptsächlich im oberen und mittleren Abschnitt des Dünndarms (68). Sie findet hauptsächlich durch aktive Transportmechanismen statt.

Die stereochemische Konfiguration der Aminosäuren spielt dabei eine große Rolle. So werden die L-Formen vieler Aminosäuren rascher resorbiert als ihre D-Isomeren (38, 109, 80). Ein aktiver Transportmechanismus konnte bereits für mehrere Aminosäuren nachgewiesen werden (68). Die aktive Resorption unterliegt gewissen Gesetzmäßigkeiten. Aus einem Aminosäuregemisch werden die einzelnen Aminosäuren verschieden schnell resorbiert (80, 49), wobei die Aminosäuren offensichtlich einer kompetitiven Resorptionshemmung unterliegen. Es sollen sich auch aktiv resorbierte Zucker und Aminosäuren wechselseitig im Transport behindern (10, 11, 28). Diese aktiven Transportvorgänge für Zucker und Aminosäuren sind an den aktiven Natriumtransport (Natriumpumpe) aus der Zelle gekoppelt (22).

Für die D-Form des Methionin ist inzwischen auch ein aktiver Transportmechanismus gefunden worden (49). Man vermutet andererseits aber auch, daß die Resorption vieler D-Aminosäuren passiv, aber in einem besonderen Diffusionsvorgang erfolgt.

Es können aber auch Peptide resorbiert werden. Diese unterliegen einem getrennten Resorptionsmechanismus (73). Die resorbierten Peptide werden durch die Proteasen der Dünndarmschleimhaut gespalten. Die freigesetzten Aminosäuren gelangen mit den übrigen freien Aminosäuren in die Blutbahn, zu einem kleinen Teil auch in die Lymphbahn.
Von den Proteasen müssen jedoch nicht nur die exogen zugeführten, sondern auch die endogenen Proteine gespalten werden, die mit den Verdauungssäften (als Enzymproteine), Schleimstoffen und abgeschilferten Epithelien in den Magen-Darm-Trakt gelangen. Die täglich abgegebene Menge dieser Proteine entspricht ungefähr der Menge des zugeführten Nahrungsproteins (68).

Literaturverzeichnis

1. Abderhalden, E., H. Hanson: Fermentforsch. 15 (1938) 382
2. Ammon, R., W. Dirscherl: Fermente - Hormone - Vitamine, Band I Fermente. Georg Thieme, Stuttgart 1959
3. Anson, M.L., A.E. Mirsky: J. Gen. Physiol. 16 (1932) 59
4. Anson, M.L.; J. Gen. Physiol. 22 (1938) 79
5. Auricchio, S., A. Rubino; R. Tosi, G. Semenza, M. Candolt, H. Kistler, A. Prader: Enzym. Biol. clin. 3 (1963) 193
6. Baker, L.E.: J. Biol. Chem. 193 (1951) 809
7. Baker, L.E.: J. Biol. Chem. 211 (1954) 701
8. Best, Ch.H., N.B. Taylor: The Physiological Basis of Medical Practice. The Williams and Wilkins Company, Baltimor 1966
9. Blumenfeld, O.O. und G.E. Perlmann: J. gen. Physiol. 42, 553, (1959)
10. Bingham, J.K., H. Newey, D.H. Smyth: Biochim. Biophys. Acta 120 (1966) 314
11. Bingham, J.K., H. Newey, D.H. Smyth: Biochim. Biophys. Acta 130 (1966) 281
12. Bockus, H.L.: Gastroenterology, Vol I. W.B. Saunders, Philadelphia 1963
13. Borgström, B.: Biochim. Biophys. Acta 13 (1954) 491
14. Borgström, B., A. Dahlquist, G. Lundh, J. Sjövall: J. Chlin. Invest. 36 (1957) 1521
15. Borgström, B.: J. Lipid Res. 5 (1964) 522
16. Borgström, B.: In. Fettstoffwechsel, Pallas Verlag, Lochham bei München 1966
17. Bovey, S.A., S.S. Yanari in Boyer-Lardy-Myrbäck: The Enzymes, New York; Acad. Press, Vol IV, p.63-92, 1960
18. Brown, K.D., R.E. Shupe, M. Laskowski: J. Biol. Chem. 173 (1948) 99
19. Bruck, C.G.: Materia Medica Nordmark 25 (1963) wissenschaftliches Beiblatt
20. Connors, W.M., A. Phil, A.L. Dounce, E. Stotz: J. Biol. Chem. 184 (1950) 29
21. Cook, D.L., S. Eich, P.S. Cammarata: Arch. Int. Pharmacodyn. 144 (1963) 1
22. Crane, R.K.: Fed. Proc. 24 (1965) 1000
23. Dahlquist, A.: J. Clin. Invest. 41 (1962) 463
24. Danielsson, H.: Am. J. Clin. Nutr. 12 (1963) 214

25. Dauchy, F.: La Presse Medicale 77 (1969) 1575

26. Desnuelle, P., M. Rovery: Adv. Protein Chem. 16 (1961) 139

27. Desnuelle, P., In: Handbook of Physiology, Alimentary Canal. Am. Physiol. Society 1968

28. Duthie, H.L., J.T. Hindmarsh: J. Physiol. (London) 187 (1966) 195

29. Edelhoch, H, J. Am. Chem. Soc. 79, 6100-6102, 1957

30. Folin, C., V. Ciocalteau: J. Biol. Chem. 73 (1927) 627

31. Folk, J.E., E.W. Schirmer: J. Biol. Chem. 240 (1965) 181

32. Forell, M.M.; H. Stahlheber, F. Scholz: Dtsch. Med. Wschr. 90 (1965) 1128

33. Forell, M.M., H. Stahlheber, H. Fritz: Klin. Wschr. 43 (1965) 1007

34. Forell, M.M., H. Stahlheber, M. Otte: Dtsch. Med. Wschr. 92 (1967) 1413

35. Forell, M.M., M. Otte, H.J. Kohl, P. Lehnert, H.P. Stahlheber: Scand. J. Gastroent. 6 261, 266, 1971

36. Fritz, H., I. Hüller, M. Wiedemann, E. Werle: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348 (1967) 405

37. Fritz, H., M. Hutzel, I. Hüller, M. Wiedemann, H. Stahlheber, P. Lehnert, M.M. Forell: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348 (1967) 1575

38. Gibson, Q.H., G. Wiseman: Biochem. J. 48 (1951) 426

39. Green, N.M., E. Work: Biochem. J. 54 (1953) 257

40. Hanson, H.: In: Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathophysiologisch-chemischen Analyse, Band VI/C. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1966

41. Hartley, G.S.: Nature 201 (1964) 1284

42. Haverback, B.J., B. Dyce, H. Bundy, H.A. Edmondson: Am. J. Med. 29 (1960) 424

43. Hofmann, A.F., B. Borgström: Fed. Proc. 21 (1962) 43

44. Hofmann, A.F., B. Borgström: J. Clin. Invest. 43 (1964) 247

45. Hollemann, A.S., F. Richter: Lehrbuch der organischen Chemie, Walter de Gruyter & Co., Berlin 1960

46. Hoppe-Seyler, Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1966

47. Hübscher, G.: In: Fettstoffwechsel. Pallas Verlag, Lochham bei München 1966

48. Hultin, E.: Acta chem. scand. 1 (1947) 32

49. Jervis, E.L., D.H. Smyth: J. Physiol. (London) 151 (1960) 51

50. Johnson, M.J., G.H. Johnson, W.H. Peterson: J. Biol. Chem. 116 (1936) 515

51. Kalser, M.H.: In: H.L. Bockus, Gastroenterology II, W.B. Saunders & Co., Philadelphia and London 1966

52. Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Georg Thieme, Stuttgart 1970

53. Kassell, B., M. Radicevic, S. Berlow, R.J. Peanasky, M. Laskowski: J. Biol. Chem. 238 (1963) 3274

54. Kassell, B., M. Laskowski: Biochem. Biophys. Res. Commun. 20 (1965) 463

55. Keller, P.J.: In: Handbook of Physiology, Alimentary Canal. Am. Physiol. Society, Washington D.C. 1968

56. Kieth, C.A., A. Kazenko, M. Laskowski: J. Biol. Chem. 170 (1947) 227

57. Kunitz, M., J.H. Northrop: J.Gen.Physiol. 19 (1936) 991

58. Kunitz, M: J.Gen. Physiol. 30 (1947) 291

59. Kushner, I., W. Rapp, P. Burtin: J. Clin. Invest, 43 (1964) 1983

60. Langley, J.N.: L. Physiol. 3 (1882) 296

61. Laskowski. B., F.C. Wu:J. Biol. Chem. 204 (1953) 797

62. Laskowski. M.Sr., B. Kassell, R.J. Peanasky, M. Laskowski, Jr.: In: Hoppe-Seyler(Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, Band VI/C Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1966

63. Leuthart, F.: Lehrbuch der Physiologischen Chemie. Walter de Gruyter & Co., Berlin 1963

64. Levey, S., S. Sheinfeld: Gastroenterology 27 (1954) 625

65. Lorentz, Kl, A. Zander, J. Adlung: Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 7 (1969) 241

66. Mahler, H.R., E.H. Cordes: Bilogical Chemistry. Harper & Row, New York, Evanston & London 1967

67. Marchis-Mouren, G., L. Sarda, P. Desnuelle: Arch. Biochem. Biophys. 83 (1959) 309

68. Matthews, D.M.: Klin. Wschr. 47 (1969) 397

69. Miller, D., R.K. Crane: Biochem. Biophys. Acta 52 (1961) 293

70. Naughton, M.A. F. Sanger: J. Biochem. 46 (1959) 1553

71. Neurath, H: In: P.D. Boyer, H. Lardy, K. Myrbäck: The Enzymes Vol 4. Academ. Press, New York 1960

72. Neurath, H.: Fed. Proc. 23 (1964) 1

73. Newey, H., D.H. Smyth: J. Physiol. (London) 164 (1962) 527

74. Northrop, J.H.: J. Gen. Physiol. 13 (1930) 739

75. Northrop, J.H., M. Kunitz: Science 73 (1931) 262

76. Northrop, J.H., M. Kunitz: J.Gen.Physiol. 16 (1932) 267

77. Northrop, J.H., M. Kunitz: Science 80 (1934) 505

78. Northrop, J.H., M. Kunitz, R.M. Herriot: Crystalline Enzymes, Columbia Univ.-Press, New York 1948

79. Ong, E.B., G.E. Perlmann: J. Biol. Chem. 243 (1968) 6104

80. Orten, A.U.,: Fed. Proc. 33 (1963) 1103

81. Parkes, C.O., L.B. Smillie: Can.J. Biochem. 45 (1967) 1495

82. Rajagopalan, T.G., S. Moore, W.H. Stein: J. Biol. Chem. 241 (1966) 4940

83. Rhodes, J.B.: In: Handbook of Physiology, Alimentary Canal. Am. Physiol. Society, Washington D.C. 1968

84. Richmond, V., J. Tang, S. Wolf, R.E. Trucco: J. Biol. Chem. 234 (1959) 1174

85. Ritzel, G.: Schweiz. Med. Wschr. 94 (1964) 1043

86. Rovery, M., M. Poilroux,A. Yoshida, P. Desnuelle: Biochim. Biophys. Acta 23 (1957) 608

87. Ryle, A.P., R.R. Proter: Biochem. J. 73 (1959) 75 (zitiert in 76)

88. Samloff, M.: Gastroenterology 57 (1969) 659

89. Samloff, M.: Gastroenterology 60 (1971) 586-603

90. Sanger, F., H. Tuppy: Biochem. J. 49 (1951) 481 (zitiert in87)

91. Sarda, L., G. Ailhaud, P. Desnuelle: Biochim. Biophys. Acta 37 (1960) 570

92. Schobel, B., N. Stefenelli, F. Wewalka, J.H. Holzner: Klin. Wschr. 42 (1964) 628

93. Schwann, T.: Über das Wesen des Verdauungsprozesses. Müllers Arch. 90 (1836)

94. Seijffers, M.J., H.L. Segal. L.L. Miller: Am. J. Physiol. 205 (1963) 1099

95. Seligmann, A.M., M.M. Nachlas: J. Clin Invest. 29 (1950) 3

96. Semenza, G., S. Auricchio: Biochem. Biphys. Acta 65 (1962) 172

97. Semenza, G.: Handbook of Physiology, Aliment. Canal. Am. Phys. Soc, 1968

98. Smith, B.W., J.H. Roe: J. Biol. Chem. 179 (1949) 53

99. Smith, E.L.: J. Biol. Chem. 176 (1948) 9

100. Soskin. S., R. Levine: In: M.W. Wohl, Dietotherapy. Clinical application of modern nutrition. W.B. Saunders & Co., Philadelphia and London 1945

101. Spallanzani, L.: Expériences sur la digestion de l'homme et de différrentes éspèces. Mourer, Lausanne 1785

102. Straub, F.B., Szabo, M.T., T. Dévény: FEBS Symposium 18 (1970) 257-262

103. Sumner, J.B.: J. biol. Chem. 62 (1925) 287

104. Tang, J., Tang K.J,: J. Biol. Chem. 238 (1963) 606

105. Taylor, W.H.: In: Handbook of Physiology, Alimentary Canal. A. Physiol. Society, Washington D.C. 1968

106. Troll, W., R.K. Cannan: J. Biol. Chem. 200 (1953) 803

107. Turner, M.D., L.L. Miller, H.L. Segal: Gastroenterology 53 (1967) 967

108. Turner, O.A.: Fed. Proc, 21 (1962) 25

109. Vallee, B.L.: Fed. Proc. 23 (1964) 8

110. Van Vunakis. H. und R.M.Herriot, Biochim. Biophys. Acta 22, 537 (1956)

111. Van Vunakis, H. und R.M. Herriot, Biochem. Biophys. Acta 23, 600 (1957)

112. Weber, H.: Dtsch. Med. Wschr. 90 (1965) 1170

113. Wills, E.D.: Biochim. Biophys. Acta 40 (1960) 481

114. Wu, F.c., M. Laskowski: J. Biol. Chem. 213 (1955) 609

115. Yamsaki, M., J.R. Brown, D.J. Cox, R&N. Greenshields, R.D. Wade, H. Neurath: Biochemistry 2 (1963) 859

L e b e n s l a u f

Als viertes von fünf Geschwistern wurde ich am 18.7.1947 in Gersfeld geboren, wo mein Vater, Dr. Erwin Kircher, praktischer Arzt ist. Ich besuchte die Volksschule in Gersfeld und legte das Abitur 1966 an der Marienschule in Fulda ab. Seit dem Sommersemester 1967 studiere ich hier in München Medizin und habe mich zum Staatsexamen im Herbst 1972 gemeldet.
Seit 1968 bin ich verheiratet; mein Mann ist Arzt und seit 1970 haben wir eine Tochter.